No. 18 August, 1958

BULLETIN

OF THE

HOKKAIDO REGIONAL FISHERIES RESEARCH LABORATORY

FISHERIES AGENCY

水　産　庁

北海道区水産研究所研究報告

第 18 号

北海道区水産研究所
北海道余市町
昭和 33 年 8 月

HOKKAIDO REGIONAL FISHERIES RESEARCH LABORATORY
YOICHI, HOKKAIDO, JAPAN

水産庁北海道区水産研究所研究報告

第十八号

目　次

Eggs and Larvae of Flatfishes in the Coastal Waters of Hokkaido

III

Post-embryonic development and larvae of the flatfish *Lepidopsetta mochigarei* Snyder

By

Tatsuo Yusa

Introduction

The present paper deals with the results of observations on the artificially fertilized eggs and hatched larvae of *Lepidopsetta mochigarei* Snyder at the Hokkaido Regional Fisheries Research Laboratory of Yoichi, Japan. The early embryonic development of this species has been reported by the writer (1957)(1). The present paper is a report on the post-embryonic development from 32-cell stage to 22 days old larva, and further, on the experiment of embryonic development in the dark box, and phototaxis of larvae.

Here the sincerest thanks of the writer are offered to Dr. Sakae Sato of the Hokkaido Regional Fisheries Research Laboratory, under whose helpful advice and criticism this work has been done, and also to Prof. Isao Motomura of the Biological Institute of Tohoku University for reading the manuscript.

Methods of procedure

The spawning season of this species, which is extremely abundant on the coastal waters of Hokkaido, Japan, continues throughout the winter season from December to March.

Animals were caught by gill-nets in Ishikari Bay, Hokkaido, on January 13, 1955. The standard body length of female was 29.2 cm. and that of male 33.8 cm. in the materials used in the present study. The eggs were fertilized by the ordinary dry method. The fertilized eggs were cultured in sea water of density 1.0245 (15°C) and at temperatures ranging between 4.0–8.5°C. The sea water was changed frequently during the development in order to keep the eggs from contamination. The apparatus, and the methods used were the same as described in Part II of this series of studies. (Yusa, 1957)(1)

Observations were carried out on living material, or with Tricaine methane-sulfonate anesthetized to observe the larvae in detail. One part of the anesthetic was diluted with 5,000 parts of sea water.

Eggs

The eggs are yellowish brown in color, slightly untransparent or fairly transparent in the same batch, and they have a modal diameter of 0.899 mm. ranging from 0.86 to 0.94 mm. They are demersal and adhere to each other or on the glass bottom within a few minutes after coming in contact with sea wather. Adjacent surfaces of the eggs may not remain somewhat flattened. When they were detached, they adhered repeatedly to each other or on the glass surface.

The chorion is about 14μ in thickness. The surface is horny with a pattern of irregular reticulate marking. A large number of small globules, which are probably the cortical alveoli, are scattered over the surface of the cortex. When stripped the bulk of the protoplasm is found covering in unequal thickness the entire surface of the yolk. The protoplasm of the animal pole is much thicker than other parts as shown in Fig. A.

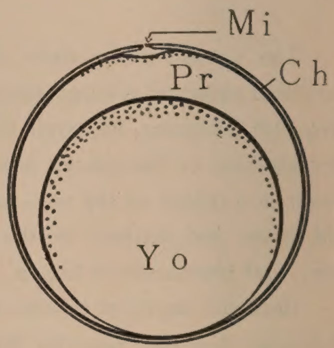


Fig. A. Unimpregnated mature egg. *L. mochigarei.*——Ch, Chorion ; Mi, Micropyle ; Pr, Protoplasm; Yo, Yolk.

Embryonic development

The first cleavage was observed at about 5 hours after fertilization. The interval between cleavages was approximately 3 hours, showing some deviations. The cleavage plane of from the first to the fourth cell divisions was meridional to divide the blastodisc into blastomeres of nearly equal size. The type of segmentation in this species is typically meroblastic as in the demersal teleostean eggs. The fifth cleavage was completed at about 16 hours and 40 minutes after fertilization. The blastoderm becomes two cell layers in thickness as the result of the latitudinal division of the fifth cleavage with 32 blastomeres of nearly equal size. (Pl. I. Figs. 1,2.)

The sixth cleavage was observed about 19 hours and 20 minutes after fertilization. (Pl. I. Fig. 3)

Further cleavages were difficult to follow in the living material. The blastodermal cap with very aorupt edges, the early morula stage, was observed at about 23 hours after fertilization. (Pl. I. Fig. 4) The late morula stage was at about 32 hours after fertilization.

At the blastula stage, which was about 55 hours after fertilization, the blastodermal cap was pressed into the yolk and with the outline continuous to the yolk region. (Pl. I. Fig. 6)

Soon after the formation of the germinal ring the early embryonic shield was differentiated at approximately 70 hours after fertilization. This stage is the early gastrula. (Pl. I. Fig. 7)

Invagination occurs at the posterior pole of the early embryonic shield, where a very rapid proliferation of cells results in the formation of a broad tongue-like area of protoplasm. The embryonic shield gradually grows forward into the segmentation cavity. At the same time the germinal ring reaches nearly to the equatorial plane, completing the gastrula stage at 81 hours after fertilization. (Pl. I. Figs. 8,9)

The constriction of the yolk by the germinal ring causing the uncovered portion of the yolk to bulge prominently outward was not observed in this species, whereas the excessive constriction of the germinal ring could be observed in *Pleurogrammus azonus* J. & M. [(2)], HEXAGRAMMIDAE. This is probably due to the small volume of the protoplasm in contrast with the yolk. (Fig. B)

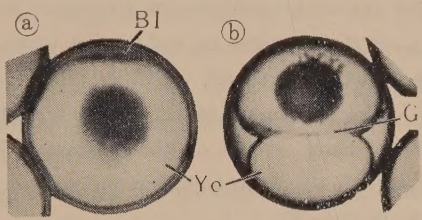


Fig. B. *Pleurogrammus azonus* J. & M.
The constriction of thə yolk by the germinal ring.
a.-Fully developed blastodisc; b.-Germinal ring nearly at eqatorial plane. Bl.-blastodisc; Yo.-Yolk; Gr.-Germinal ring.

The germinal ring advanced beyond the equatorial plane of the yolk and was sufficient to cover nearly three-fourths of the yolk surface at approximately 113 hours after fertilization. After passing the equatorial plane, the embryonic area becomes thick. (Pl. I. Figs. 10, 11) Epibolic growth extends to three-fourths of the egg surface. (Pl. I. Fig. 12)

The blastopore is at the stage of just before closure at 120 hours after fertilization. The dorsal ridge which protrudes into the perivitelline space at the head and the posterior regions is formed as a marked thickening along the median line. At the head region the optic vesicles appear without pupils. Kupffer's vesicle appears, embedded in the yolk near the posterior end of the embryo. (Pl. I. Fig. 13)

At about 129 hours after fertilization the blastopore is closed completely. The embryo covers more than half the circumference of the yolk sphere. At this time the pupils of the eyes appear. But, the mesodermal somites and other organs are not observable. (Pl. I. Fig. 14)

A complete Kupffer's vesicle and the notochord appear at about 165 hours after fertilization. (Pl. I. Fig. 15)

The heart is observable as a slight bulge of the body wall into the yolk and

at the ventral of the nape at about 177 hours after fertilization. (Pl. I. Figs. 16, 17)

At 7 hours after this stage 15 pairs of mesodermal somites are counted.

At about 197 hours after fertilization, the embryo has about 20 mesodermal somites. The tail begins to grow. (Pl. I. Fig. 18)

At about 204 hours after fertilization, the Kupffer's vesicle has reached its full growth. The embryo extends more than three-quarters around the yolk. The posterior part is not freed from the yolk sac. (Pl. I. Fig. 19)

At about 211 hours after fertilizatoin, the Kupffer's vesicle is decreasing in size and then it disappears. The tail becomes free from the yolk sac. The intestine appears as a long tubule at the ventral side of the embryo. The three divisions of the brain can be distinguished. (Pl. I. Fig. 20)

At about 221 hours after fertilization, the Kupffer's vesicle has completely disappeared. The embryo surrounds the yolk as a result of the growth of the tail. The larval fin fold begins to appear at the dorsal surface of the head, continuing to about the posterior end of the trunk, and extending anteriorly to the yolk sac as a ventral fin fold.

The pigment appears as a few scattered minute black specks on the surface of the body, except on the surface of head, yolk sac and fin fold. At this time slightly yellow-brownish auditory vesicles can be observed posterior to the eyes. (Pl. II. Fig. 21)

At about 244 hours after fertilization, the heart begins its pulsation, pulsating slowly and moving minute colorless corpuscles in the heart chamber at each beat. At this stage yellow stellate chromatophores are to be seen distributed on all parts of the body. Spasmodic movements of the embryo are observable at about 258 hours after fertilization. From this stage the embryo shows no remarkable change till about 324 hours after fertilization, except for slightly heavier pigmentation, vigorous movement, and the absorption of the yolk sac.

At about 324 hours after fertilization the tip of the tail extends to the occipital region. The black and yellow chromatophores become dentritic or stellate. (Pl. II. Fig. 22)

At about 331 hours after fertilization, the tip of the tail is growing to reach the length of the embryo more than 1¼ of the circumference of the egg. Yellowish dentritic chromatophores and four or five black dentritic chromatophores can be observed sparsely distributed on the surface of the yolk sac. (Pl. II. Fig. 23)

At about 375 hours after fertilization, the embryo becomes active, swinging the tail violently to both sides and twitching the body, or often turning completely in the chorion. The pigmentation becomes heavy. (Pl. II. Fig. 24)

At about 474 hours after fertilization, the outer layer of the chorion, probably the adhesive substance, shows a remarkable swelling. (Pl. II. Fig. 25) This swelling of the outer layer chorion is observed shortly before hatching, with some individual

differences. The larvae hatched out, head first, through the rupture of the inside and outside chorion at about 475 hours after fertilization.

Development of the Larva

The newly hatched larvae lie down on the bottom of the vessel; sometimes, they swim upwards by means of flutterings of the tail and then they go downwards head first stopping the flutterings of the tail, as in *Limanda yokohamae* G.(3) and *Gadus macrocephalus* T.(4)

The newly hatched larvae are from 3.95 to 4.48 mm. in total body length. (Pl. II. Figs. 29, 30) The body is symmetrical with a long trunk, nearly circular in cross section, and gradually tapering posteriorly. The yolk sac becomes small by absorption, measuring about 0.77mm. along its horizontal axis and 0.4mm. in width. The head extends beyond the yolk sac, which is not deflected as in *Platichthys stellatus* P.(5) The vent is located just at the posterior margin of the yolk sac. The distance from tip of the head to posterior end of intestine is about 1.40 mm. and from the latter to the end of the caudal fin fold about 2.85 mm. respectively. The rectum is quite large at the time of hatching in comparison with that of the larvae of other flatfishes wich come from pelagic eggs.

The median larval fin fold is beginning to appear at the dorsal surface of the head, continuing to about the posterior end of the trunk; it extends anteriorly to the anus as a ventral fin fold. The pectoral fins appear as minute trans parent fan-like structures on both sides of the body just posterior to the auditory capsules. These latter measure about 105μ in their horizontal diameter and about 75μ in width, with two black spots on each capsule.

The pigmentation of the larvae is the most important character for recognition. Black and yellowish dentritic of stellate chromatophores are distributed sparsely over the body or yolk sac. Especially, the black and yellow chromatophores are grouped on five regions of the body. The first chromatophore group is located at the anterior region in the intestine, the second at the posterior and slightly distant from the vent, the third at the half way point between the vent and the posterior

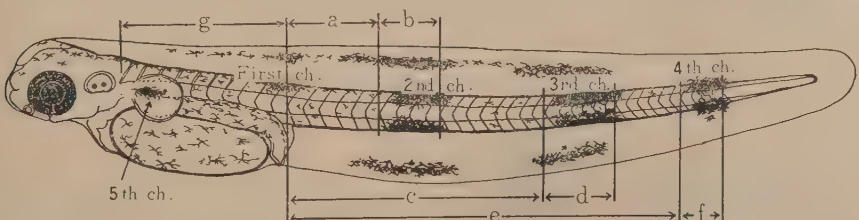


Fig. C. The relation of myotome numbers and chromatophore of the newly hatched flatfish larva, *Lepidopsetta mochigarei* S.
a .... 7-8 myotomes; b .... 2-3; c 18-19;
d .... 2-4; e .... 29-32; f .... 3-4; g .... 10-11.

end of the tail, the fourth between the third group and the tip of the teil, and the fifth at the base of the pectoral fins respectively. In addition to those groups the pigmentation is observable at the margin of the dorsal-fin fold and ventral-fin fold, in the latter it is separated in two regions. The writer named these chromatophores as shown in Fig. C.

The depth of the fin fold is as in the Table I. It is measured at about the middle of the chromatophore region.

Table I

	The chromatophore region (mm.)			
	An. re.	2nd ch.	3rd ch.	4th ch.
Dorsal fin fold	0.27-0.30	0.27-0.30	0.18-0.22	0.11-0.14
Body width	0.16-0.17	0.15-0.16	0.14-0.15	0.80-0.85
Ventral fin fold	0.19-0.20	0.22-0.25	0.15-0.22	0.12-0.14

An. re. .... Just posterior anus region.
2nd ch. .... 2nd chromatophore region.
3rd ch. .... 3rd chromatophore region.
4th ch. .... 4th chromatophore region.

Counts of somites have been made as far as the anus and the end of the body. The numbers of the myotomes at anterior to and posterior to the anus are 10～11 and 32～36 respectively. The total number of myotomes does not increase in the stages between the hatching and the absorption of the yolk sac. The relation of myotome numbers and chromatophores is as in Fig. C.

The newly hatched larva of this species is closely like that of *Limanda yokohamae* GÜNTHER ; however, the former can be distinguished from the latter by the chromatophores on the fin fold and by the form of the yolk at the least for 4 days after hatching. (Fig. D.)

The 2nd pigment (See Fig. C) on the body of the species is marked by a vertical



c

d

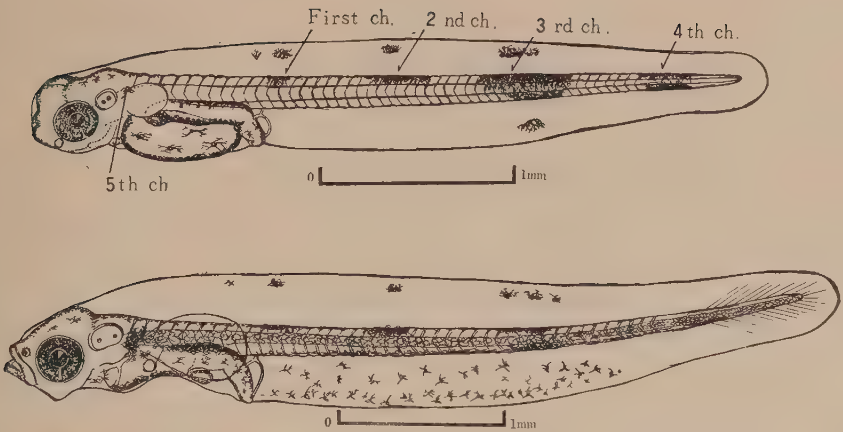


Fig. D. a, b……*Lepidopsetta mochigarei* S., a,……Larval fish just after htching. b,……22 days old larva.
c, d……*Limanda yokohamae* G., c,……Larval fish soon after hatching. d,……15 days old larva.

band of black and yellow pigments, and by the aggregated chromatophore region about the margin of the ventral-fin fold.

At five days after the hatching (Pl. III. Fig. 32), the larvae are from 4.28 to 4.63 mm. in total length. The yolk is absorbed. The yolk sac is now about 0.40 mm. in length and 0.3 mm. in depth. At this stage the mouth and the jaws are functional. Incipient larval rays are evident as supports in the caudal portion of the fin fold. In the three-days-old larvae (Pl. II. Fig. 31) the vent has become large and probably is completely opened. The pattern of pigmentation is essentially the same as at the time of hatching. The black and yellowish dentritic chromatophores have increased in size and show well-developed pigmented processes, but they are apparently fewer in number than in the newly hatched larvae. The black dentritic chromatophores at the intestinal dorsal region became a little darker. From about the fourth day the larvae move the pectoral and caudal fins in typical swimming movements and they are able to keep themselves in any level of the jar.

At ten days after the hatching, the larvae measure from 4.60 to 4.82 mm. in total length. (Pl. III. Fig. 34) The yolk sac now has become small and is included partly in the intestine.

At twenty days after the hatching, the larvae are from 4.71 to 5.01 mm. in total length. The yolk sac is now very small and spheroid. The distances from the tip of the snout to the posterior end of the intestine and from the latter to the end of the caudal fin fold are about 1.45 mm. and 3.41 mm. respectively.

At twenty-two or twenty-three days after the hatching, the larvae become is called post-larvae having absorbed the yolk completely. (Pl. IV. Figs. 35, 36)

At this stage the larva is still perfectly symmetrical. The fin fold and the pigmentation pattern of the body remain essentially the same as in the preceding stage.

It seems to be the critical period for these larvae at the twenty-fourth day after hatching, since a high mortality is shown under laboratory conditions.

Experiment on the embryonic development in a dark box

Experiments on the influence of light on the development were carried out, especially on the pigmentation of the larvae. The fertilized eggs were cultured near a window as a control, being shadowed from direct sunlight. Other eggs were cultured in a dark box.

The results were the same in the light and in the dark. The writer findings contradict those of A. Dannevig and S. Hansen (1952)[6] who reported, in plaice eggs, a higher hatchability and a poor development of pigmentation on the dorsal side of the larvae in total darkness.

The phototaxis of the larvae

As mentioned above, the development of the larvae are the same in the light and in the dark. Ten-day-old larvae showed equally pcstive phototaxis for electric light. This indicates the possibility that the larvae can be caught from the surface of the open sea with plankton net hauls.

Summary

In the present paper, the post-embryonic development and the larvae of the flatfish *Lepidopsetta mochigarei* S. were described. The early embryonic development of this species had been reported in the previous paper (1957)[1]. The materials were obtained from the flatfish caught in Ishikari Bay on Jan. 13 1955, and were cultured in sea water at 4.0–8.5°C. from 32-cell stage to 22-day-old larvae.

Results are summarized as follows:

1. The constriction of the yolk by the germinal ring is not distinct in this species as it is in *Pleurogrammus azonus.*

2. The larvae hatch out head first through the rupture of the chorion at about 475 hours after fertilization. Expansion of the outside chorion became remarkable sortly before hatching.

3. The newly hatched larvae lie on the bottom of the vessel, and sometimes they swim upwards.

4. The vent is located at the posterior margin of the yolk sac, which is typical in the flatfish larvae. The rectum is large in comparison with those of hatched larvae of other flatfish species.

5. The newly hatched larva of this species is closely resemblant to that of *Limanda yokohamae* G. The former can be distinguished from the latter in the pattern of distribution of the chromatophores and in the form of the yolk.

6. About four-day-old larvae show the typical swimming.

7. Form of the yolk for absorption has special point. These are characteristic differences in regard to the form of the yolk during the process of absorption.

8. Twenty-two or twenty-three days after hatching, the larvae become post-larvae.

9. The eggs of this species develop and hatch in total darkness, showing a normal pigmentation pattern. Accordingly, the influence of light on the pigmentation is not noticeable.

10. From ten days after hatching the larvae showed positive phototaxis.

Gibliography

1. Yusa, T. (1957): Eggs and Larvae of Flatfishes in the Coastal waters of Hokkaido. II. Early Development of the Flatfish, *Lepidopsetta mochigarei* Snyder. Hokkaido Regional Fisheries Research Laboratory Bulletin. (15), 15-21. (Japanese, with English summary)
2. ——. (1957): Embryonic development of the fish, *Pleurogrammus azonus* J. & M. (Unpublished)
3. ——. (1957): Embryonic development of the flatfish, *Limanda yokohamae* G. (Unpublished)
4. ——. (1954): Embryonic development of the North Pacific cod, *Gadus macrocephalus* Tilesius. Report of the survey of fisheries resources from the Hokkaido Regional Fisheries Research Laboratory. (9), 63-66 (Japanese)
5. ——. (1957): Eggs and Larvae of Flatfishes in the Coastal Waters of Hokkaido. I. Embryonic Development of the Starry Flounder, *Platichthys stellattus* (Pallas). Hokkaido Regional Fisheries Research Laboratory. (15), 1-14.
6. Dannevig, A. and S. Hansen (1952): Factors involved in Hatching and Rearing Fish Eggs and Larvae. Reports on Norwegian Fishery and Marine Investigations. 10 (1), 5-36. (Summary in English)

Explanation

Plate I

Fig. 1. The 32-cell stage, surface view, 16 hours and 40 minutes after fertilization.
Fig. 2. The same as Fig. 1, lateral view.
Fig. 3. The 64-cell stage, lateral view, 19 hours and 20 minutes after fertilization.
Fig. 4. Early morula stage, lateral view, 23 hours after fertilization.
Fig. 5. The morula stage, lateral view, 32 hours after fertilization.
Fig. 6. The blastula stage, lateral view, 55 hours after fertilization.
Fig. 7. The beginning gastrula stage, lateral view, 70 hours after fertilization.
Fig. 8. The gastrula stage, germinal ring reaches at equatorial plane, lateral view, 81 hours after fertilization,
Fig. 9. The same as Fig. 8, surface view.
Fig. 10. The gastrula stage, germinal ring reaches nearly at three-fourth of the yolk surface, lateral view, 113 hours after fertilization.
Fig. 11. The same as Fig. 10, surface view.
Fig. 12. The gastrula stage, germinal ring reaches more than three-fourth of the egg surface.
Fig. 13. Shortly before the closure of the blastopore, Kupffer's vesicle appears, side view, 120 hours after fertilization.
Fig. 14. The blastopore closed, side view, 129 hours after fertilization.
Fig. 15. Kupffer's vesicle appeared, ventral view, 165 hours after fertilization.
Fig. 16. The heart is indicated as a slight bulge of the body wall, side view, 117 hours after fertilization.
Fig. 17. The same as Fig. 16, ventral view.
Fig. 18. The embryo has about 20 somites, side view, 197 hours after fertilization.
Fig. 19. The Kupffer's vesicle had reached its full growth, 204 hours embryo, side view.
Fig. 20. Kupffer's vesicle nearly disappeared, side view, 211 hours after fertilization.

Plate II

Fig. 21. The embryo to turn completely over in its chorion, side view, 221 hours after fertilization.
Fig. 22. The tip of tale reached at the occipital region, ventral view, 324 hours after fertilization.
Fig. 23. The embryo to turn 1¼ over in its chorion side view, 331 hours after fertilization.
Fig. 24. The embryo becomes active within the egg chorion, side view, 375 hours after fertilization.
Fig. 25. The embryo shortly before hatching dorsal view, 474 hours after fertilization.
Fig. 26-28. Monstrority larvae.
Fig. 29. Larval fish soon after hatching, side view.
Fig. 30. The same as Fig. 29, ventral view.
Fig. 31. Three days old larva, side view.

Plate III

Fig. 32. Five days old larva, side view.
Fig. 33. Eight days larva, side view.
Fig. 34. Ten days old larva, side view.

Plate IV

Fig. 35. Twenty-two days old larva, side view.
Fig. 36. The same as Fig. 35, ventral view.

Plate I

L. mochigarei S.

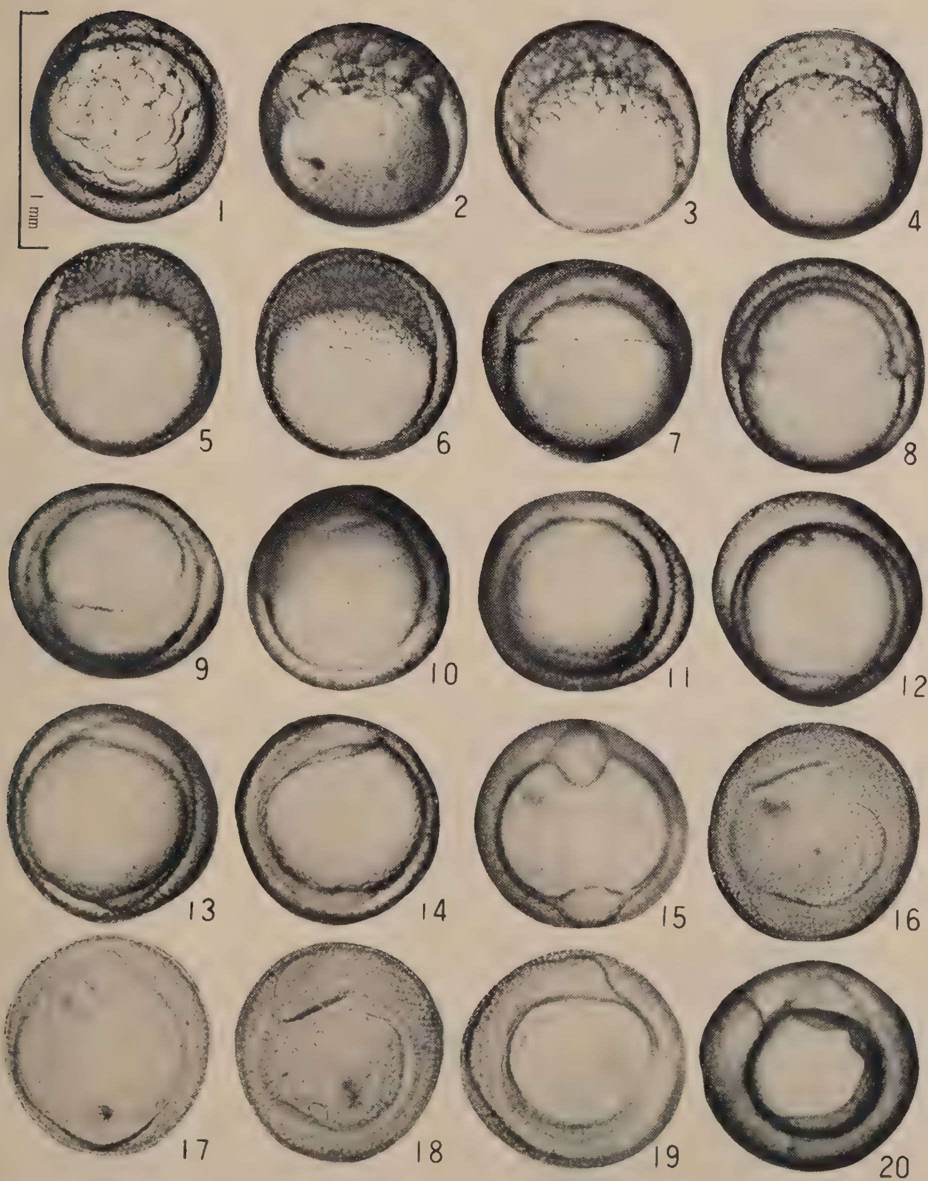


Plate II

L. mochigarei S.

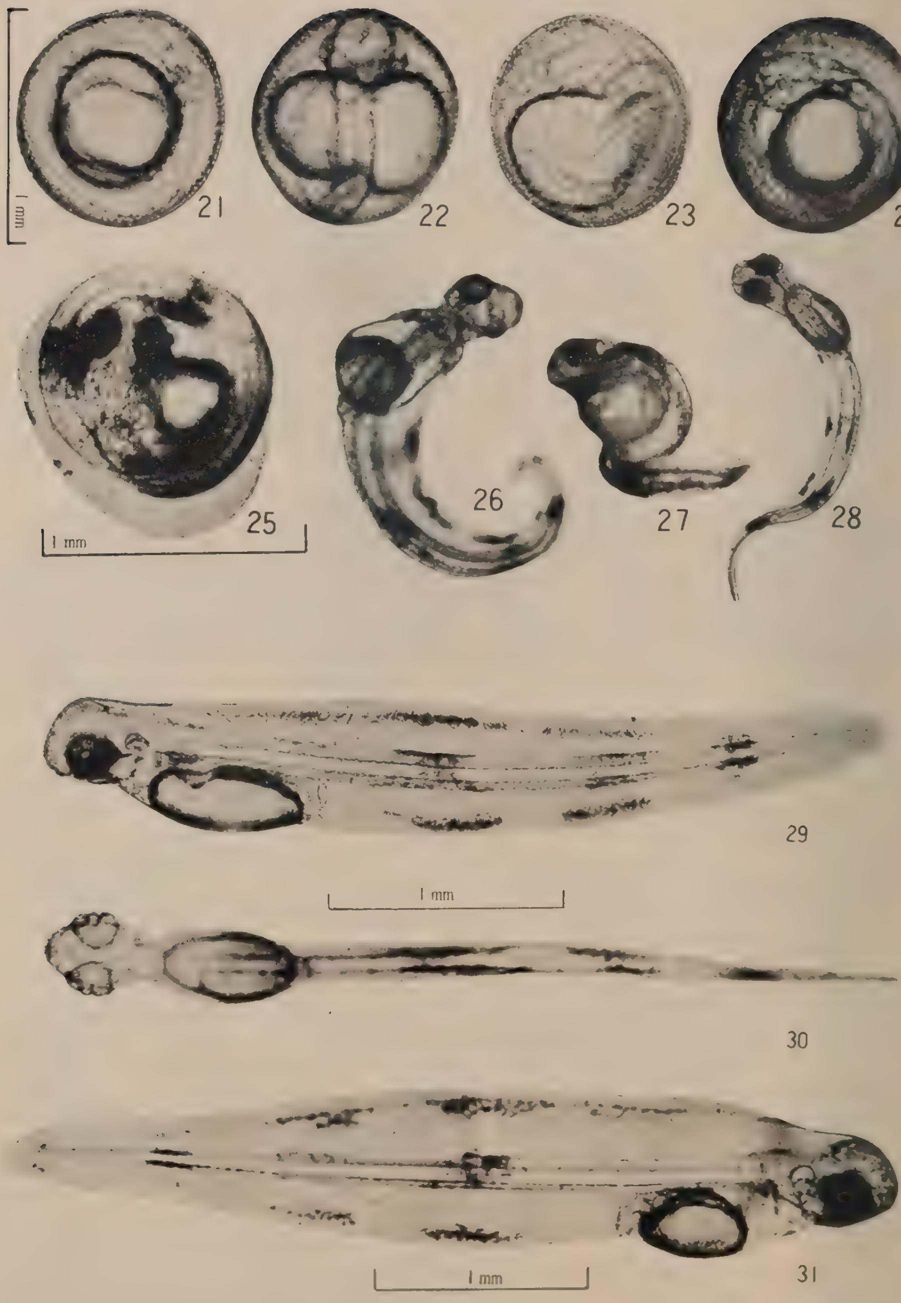


Plate III

L. mochigarei S.

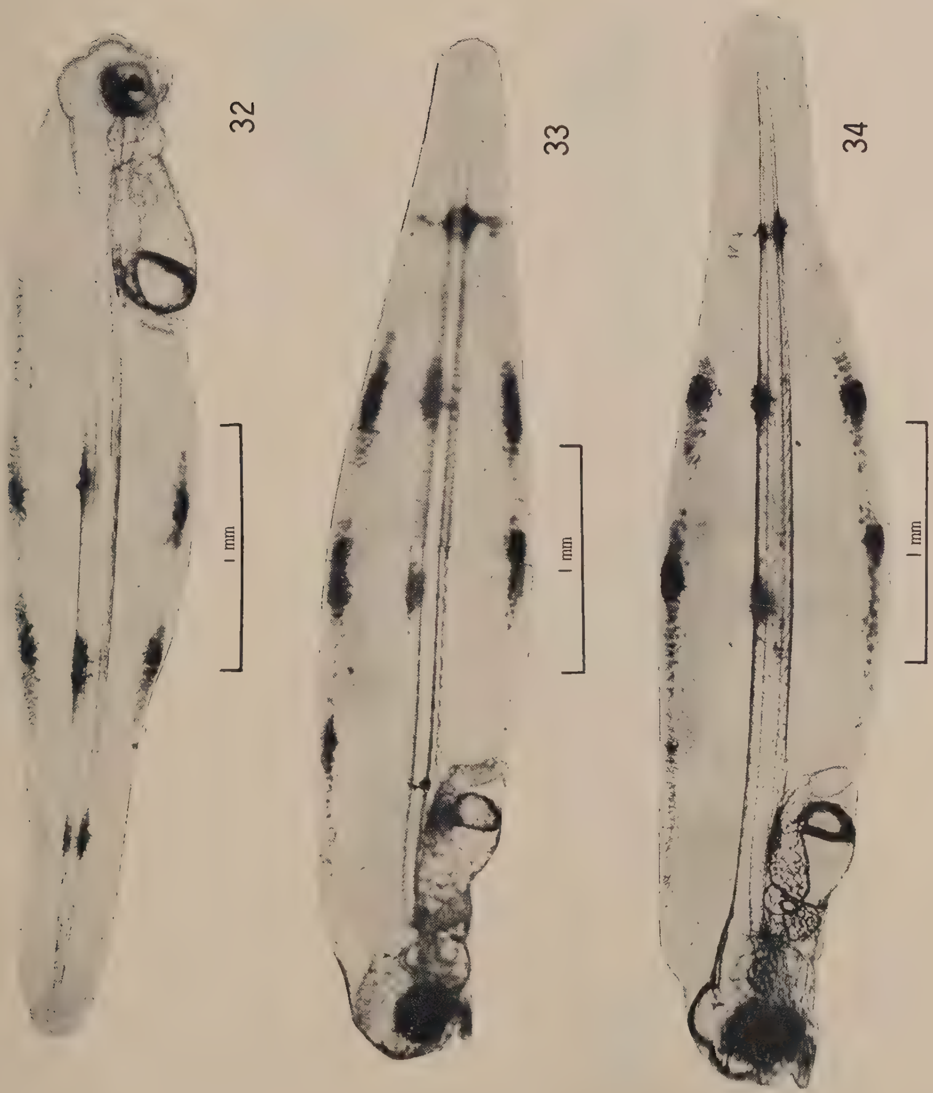
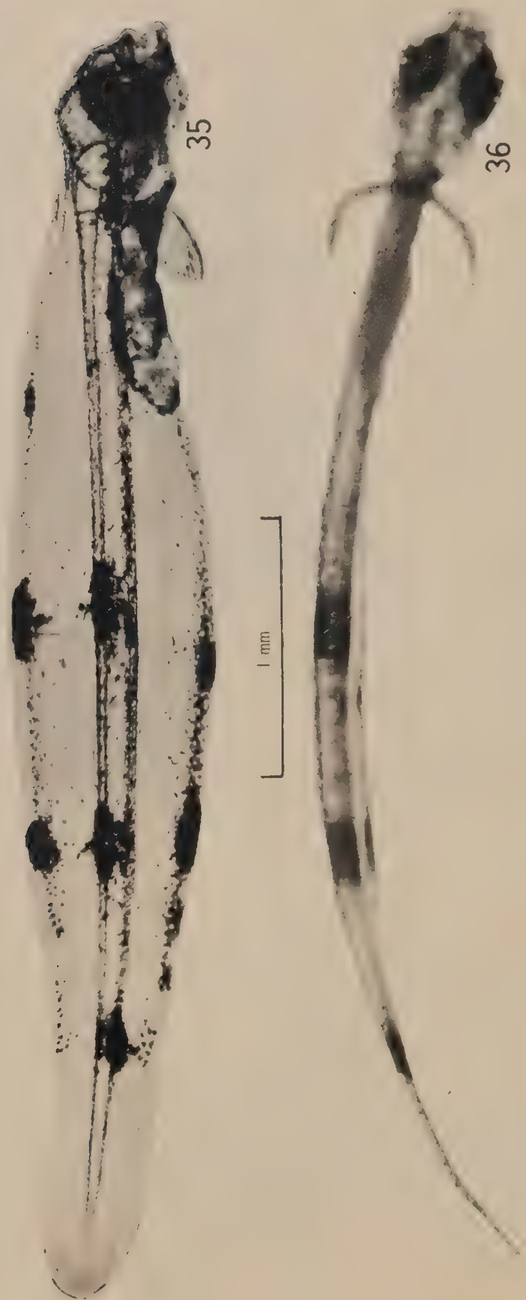


Plate IV

L. mochigarei S.



沖合におけるサケ・マス (*Oncorhynchus nerka, O. keta, O. gorbuscha*) の生殖素重量の変化からみた性成熟に関するいくつかの問題について

石 田 昭 夫・宮 口 喜 一

On the Maturity of Pacific Salmon (*Oncorhynchus nerka, O. keta and O. gorbuscha*) in Offshore, with Reference to the Seasonal Variation of Gonad Weight

By

Teruo ISHIDA and Kiichi MIYAGUCHI

A great many measurements and scale sampling were made on the Pacific salmon caught by mother-ship fishery in the North Pacific and Okhotsk Sea, from 1956. This report, from data the obtained in 1956-'57, deals with the seasonal change of gonad weight of commercial size sockeye, chum and pink salmon.

The frequency distribuiton of gonad weight has two peaks divided by the boundary of 20g in female and 2g in male, sharply in sockeye, and less sharply in chum, respectively. The pink salmon has a unimodal distribution like the shape of the graph of the large gonad sockeye group. The mode of small gonad group does not vary from the beginning to end of fishing season, but the large one shifts to the heavier side.

These facts lead to the supposition that the fish of small gonad group do not mature in the following fall.

In respect to age composition, body length and offshore distribution, there are differences according to whether the fish belong to the small or to the large gonad group.

ま え が き

1956年の漁期以来，北太平洋およびオホーツク海で操業するサケ・マス母船では，各船共に毎日魚体測定を行うようになり，大量の資料が急速にたくわえられつつある。それらの資料は，色々な角度から分析がなされつつあるが，その一つとして，生殖素重量の測定資料は性成熟の問題と関連して分析がおこなわれている。その結果をまとめたのが，この報告である。時間的な制約から，ごく簡単な分析しかしていないが，急速にましつつある資料を，これからさらに検討していくために，また，これからの資料の蓄積をどのようにするかという検討の基礎のためにも，この段階で一応まとめて発表することにした。

サケ・マスは海で幾年か成長し，産卵に遡上する年になると，その春頃から急速に生殖素重量がましはじめる。漁業が沿岸近くに限られていた時代には，この生殖素の大きくなっていく過程は，ごく終りの部分しかわからなかった。しかし，沖合漁獲の発展にともなう大量の魚体測定は，おのづからそれを明らかにしていったのである。この報告では，まず，生殖素重量の時期的な変化をしるために行った集計の結果を示した。つぎに，その年に性成熟し，産卵に遡上する魚（商業漁獲対象魚）と同じ年齢や体長をもちながら，生殖素重量の点からその年は産卵せずにおわるのではないかとおもわれる個体が，漁期後半に北方の水域で数多くみられることがあるが，それについて，えられている資料からできるだけの分析をこころみた。

使 つ た 資 料

1956年と1957年に，北太平洋およびオホーツク海で操業した全母船の魚体測定資料を使った。母船では毎有漁日ごとに，ベニザケ，シロザケ，カラフトマスのそれぞれ30尾ずつについて，体長（フオーク・レングス）と体重，性別をしらべ，採鱗し，その半数15尾について生殖素重量をはかっている。このような測定は1956年，'57年ともに全母船で行っているが，1956年には一部の船団ではシロザケを測定しておらず，そのかわりにそれらの船団のみがカラフトマスを測定している。

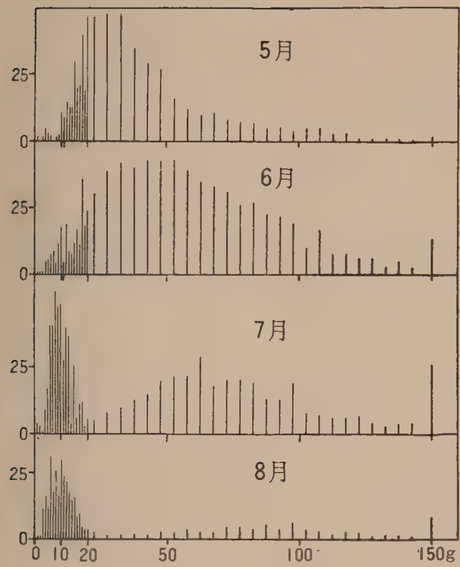
母船上の生殖素重量の測定は秤量500 gの竿秤で行っているが，種々の事情から，その測定の精度は，場合によってよくない。なかには，実際に秤にかけずに目測で判断した値が記入されている場合もあるといえる。もちろん，このような場合でも，重量1 g以下の未熟な精巣などは目測でも十分に判断できるし，その他でも数多くをあつかっているから，それ程大きい誤差はない。また，20 g以下では末尾の読みが２，５，８，０のものが多く，それ以上では５，０のものが非常に多くなっている。しかし，時期的な生殖素重量の変化がきわめて急なので，以上のような精度の測定値であっても，十分にその変化をおうことができる。

同時に採取された鱗は，別の面の分析のために年齢査定がなされ，その他の測定事項と関連して，種々の集計がなされているので，必要に応じてその結果を使用した。

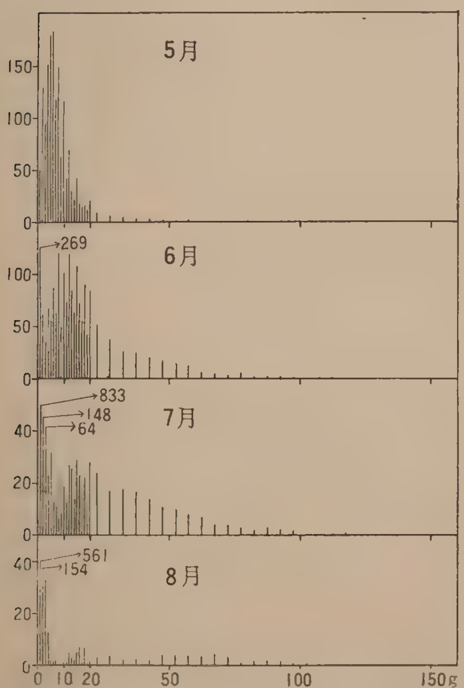
生殖素重量の季節的変化

サケ・マスはカラフトマスをのぞいては性成熟に達する年齢は一定でない。しかし，ベニザケにしろ，シロザケにしろ，ある程度の年齢，体長に達しなければ一般には性成熟に達しない。そして，その個体による変異は，性成熟に達した魚の生殖素が産卵洄游の途中でその大きさを変化させる割合にくらべれば，はるかに小さいものである。すなわち，この時期の生殖素の大きさを決定する最も重要な要因は，魚の年齢や成長度ではなく産卵期にどれだけ近ずいたかという時間的なものである。それ故，集計の手間をはぶく必要にせまられていたので，年齢や体長と関連ずけずに，ただ生殖素重量の頻度分布だけを時期別に，水域別にひろってみた。その結果は図にあらわした。第1～7図に1956，'57両年の北太平洋およびオホーツク海のベニザケの生殖素重量分布を示し，8～13図に同じくシロザケの分布を示した。第15～16図はすべての個体がその年に性成熟するはずのカラフトマスについて，ベニザケ，シロザケと比較する意味で，1957年の北太平洋の集計結果を示した。なお，集計は北太平洋の漁場全体からえられたものをひとまとめにして行ったのではなく，緯度2度，経度5度で区分した区画をいくつか加えあわせた水域別に集計し，さらにそれを1本にまとめたものである。その際，1957年のベーリング海におけるベニザケは，あきらかに北太平洋一般のものと異った生殖素重量の分布を示し，その他，年齢組成や成長度においても異っていたので，それを除外した。カラフトマスについても，漁場の南西部のものとアリウシヤン列島周辺からベーリング海にかけてのものは，生殖素重量，その他の点でちがった傾向をもっているので，ベーリング海のものは除いてまとめた。いずれの場合も，標本値をそのまま加算したもので，漁獲量などによる重みずけは行っていない。それ故，示した頻度分布は漁獲物全体を代表させるための推定値ではない。

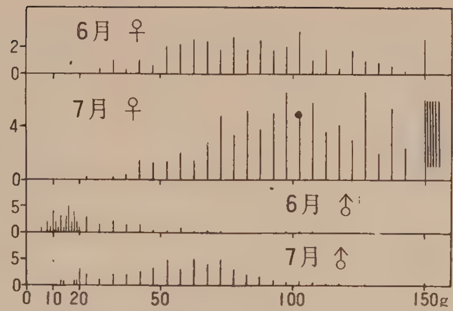
ベニザケ（第1～7図）： 1956年と1957年ともに，季節的な生殖素重量の分布の変化は基本的に変りない。すなわち，雌についてみれば，北太平洋では，5月中はモードが20 g余のところにある単峰の分布を示しているが，6月になると，そのモードは大きい方に移ると共に，旬別に示した1957年に明らかなように，6月末頃には20 g前後のところを谷に，小さい方のモードは12 g，大きい方のモードは40～50 gのところにある2峰の分布を示すようになる。7月以降は、この傾向はますますはっきりし、小さい方の峰はその形や位置をかえないままに，組成中での占める割合をましていき，一方，大きい方のモードをもつ分布群は，モードの位置が大きい方にうつりつつ，8月に入ると組成中での占める割合は急速に減少する。1957年には母船の操業が7月中旬にほとんど終了したから，下旬以降の事情はよくわからない。オホーツク海はベニザケの成育場ではなく，この水域で漁獲に入るのは，そのほとんどがその年に産卵する魚であると考え



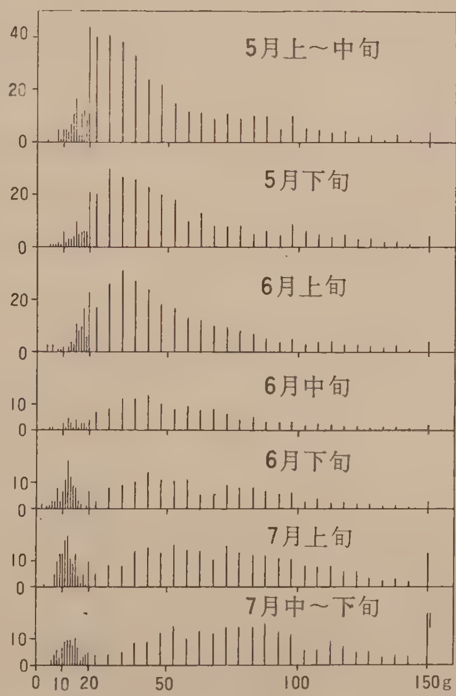
第１図　生殖素重量分布，ベニザケ，♀，1956年，北太平洋．



第２図　生殖素重量分布，ベニザケ，♂，1956年，北太平洋．

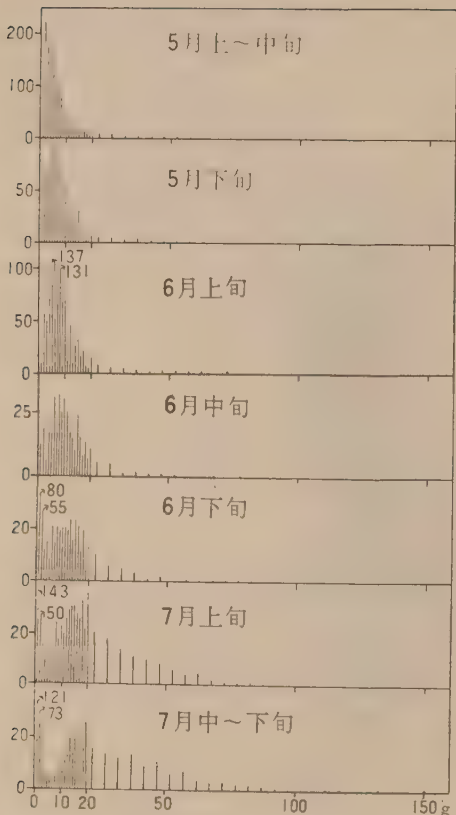


第３図　生殖素重量分布，ベニザケ，1956年，オホーツク海．

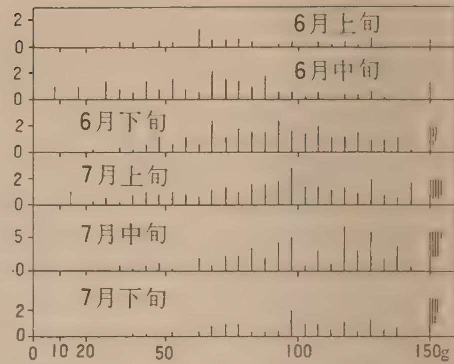


第４図　生殖素重量分布，ベニザケ，♀，1957年，北太平洋（除ベーリング海）

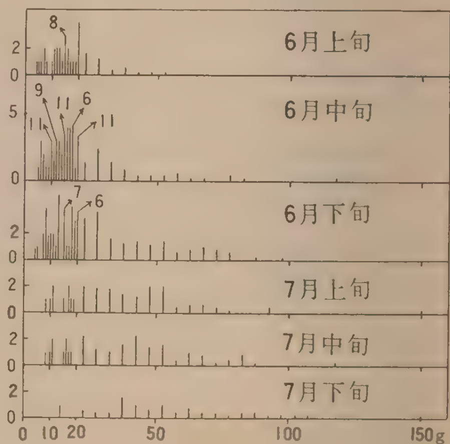
図註　20g以上の度数は５gの範囲の平均値を示してある。150g以上のものは150gのところにまとめてしめした。（１～16図共通）



第5図　生殖素重量分布，ベニザケ，♂，1957年
北太平洋（除ベーリング海）.



第6図　生殖素重量分布，ベニザケ，♀，1957年
オホーツク海.

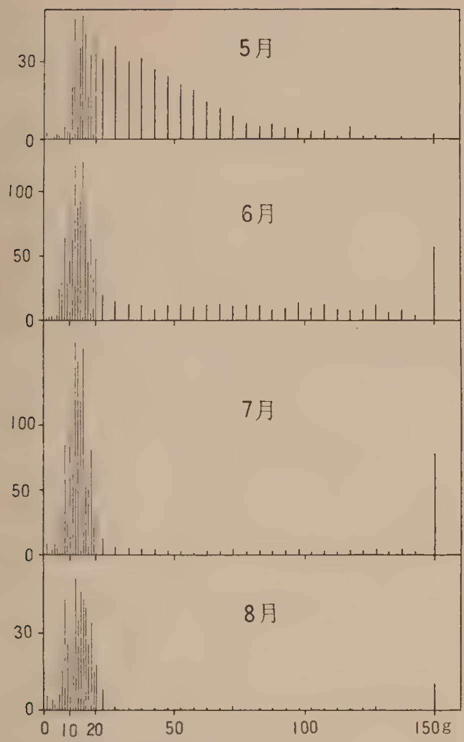


第7図　生殖素重量分布，ベニザケ，♂，1957年
オホーツク海.

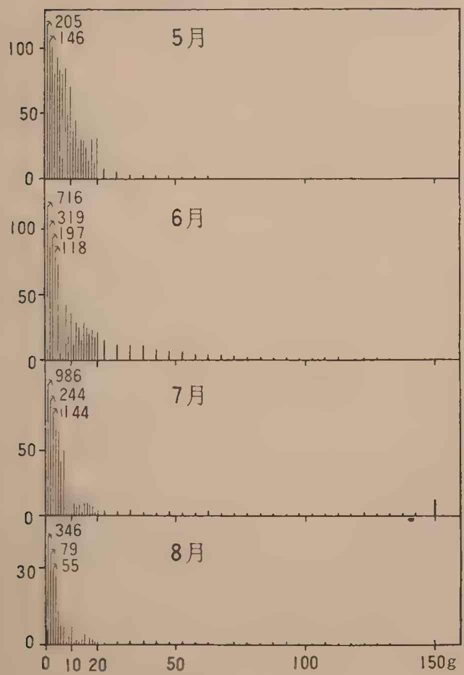
られるが，そのためか，20 g以下の卵巣重量をもつた個体はほとんどなく，6月には 60～70g，7月には100 g前後にモードをもつ分布を示している。

雄についてみると，5月から6月上旬にかけては精巣重量は10 g以下の小さいものが多く，その分布型も単峰である。しかし，旬別に示した1957年に明らかなように，モードは5月上～中旬の2～3 gから時とともに大きい方にうつっていっている。その後，精巣重量1 g位の個体の出現がまし，分布型は雌でみられたのと同様，明らかな2峰型になる。そして1 g前後の小さい方のモードをもつ分布の方は，位置をかえずに，時間とともに組成中に占める割合をましていくが，大きい方のモードに属する分布群はモードの位置が大きい方にうつるとともに，組成中に占める割合を減じていく。オホーツク海では，6月には10～20 gのところにモードがあり，7月には急速にそれが50 g位にまでうつっていく。しかし，北太平洋でみられた1 g位の精巣をもつものは全くあらわれていない。

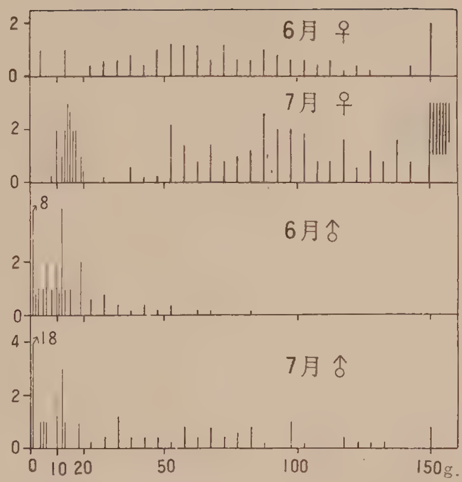
シロザケ（第8～14図）：　ベニザケとおなじく，1956年と'57年ともに，基本的に同じ状態を示している。雌についてみれば，北太平洋では，5月中には20 g前後の所にモードのある単峰の分布を示している。しかし，6月以降は20 g以下の卵巣をもち，モードが10数 gのところにある峰が，8月漁期がおわるまで，ほとんどその分布の型と位置をかえずにあらわれ，一方，より大きい卵巣をもつものの分布は，ベニ



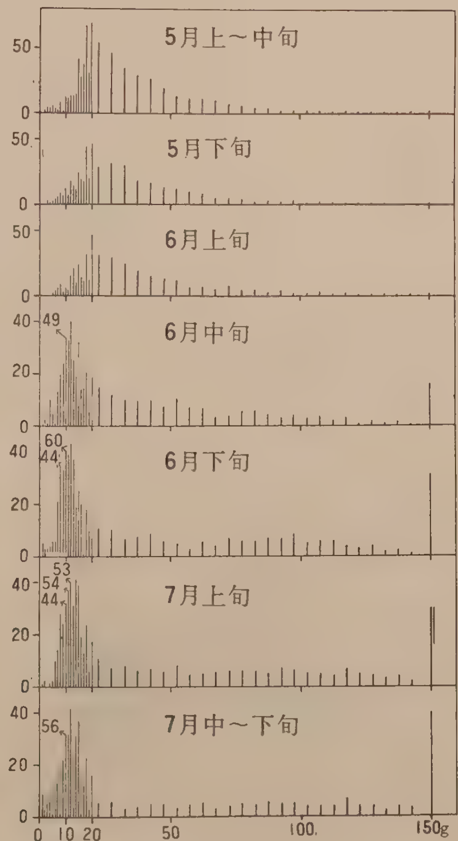
第8図　生殖素重量分布，シロザケ，♀，1956年
北太平洋.



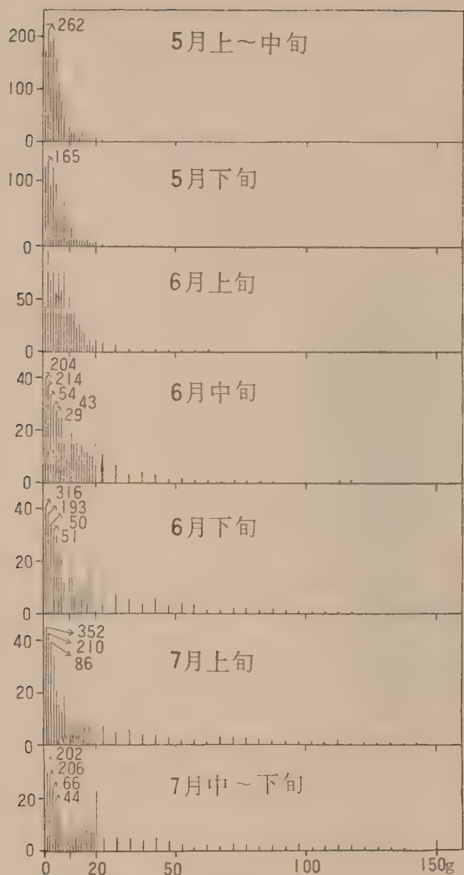
第9図　生殖素重量分布，シロザケ，♂，1956年
北太平洋.



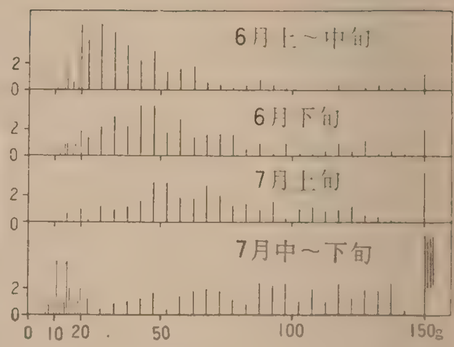
第10図　生殖素重量分布，シロザケ，1956年
オホーツク海.



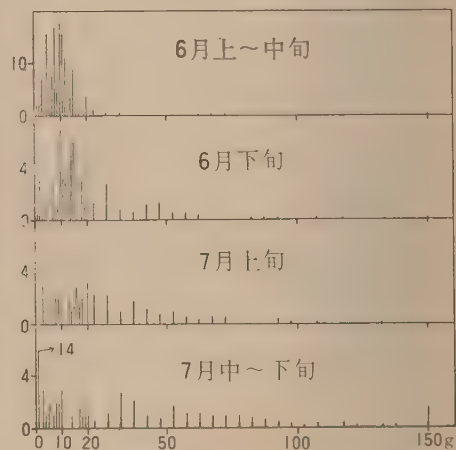
第11図　生殖素重量分布，シロザケ，♀，1957年
北太平洋.



第12図　生殖素重量分布，シロザケ，♂，1957年
北太平洋.



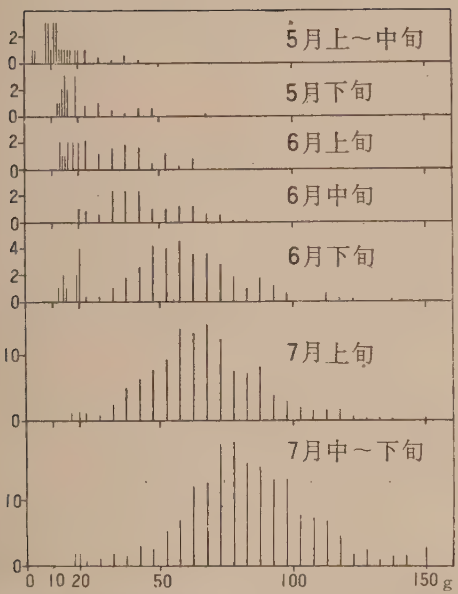
第13図　生殖素重量分布，シロザケ，♀，1957年
オホーツク海.



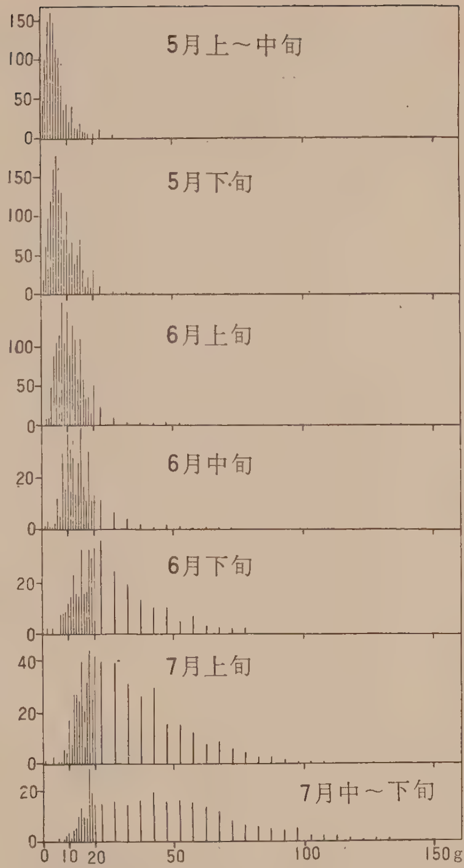
第14図　生殖素重量分布，シロザケ，♂，1957年
オホーツク海.

ザケでみられたほどには小さい方の峰と分離はしないが，季節とともに大きい方にひろがっていっている。そして，20ｇ以下の小さい卵巣をもつものの組成中の割合は，時間とともにまし，8月にはそれがほとんどをしめるようになる。オホーツク海では6月中は最小10ｇ以上，モードが20～50ｇにある単峰の分布をしめしているが，7月になると，6月にみられた分布群はさらに大きい方にうつっていくが，一方，20ｇ以下の卵巣をもち，モードが10数ｇのところにある，北太平洋にみられたのと同じ分布を示す個体があらわれる。この点ベニザケとちがっている。

雄の精巣重量の分布の変化は，1956年と'57年では，そのあらわれ方にいくらかのちがいがある。すなわち，1956年には5月から8月まで，モードは1ｇにあり，ただ時間とともに，分布の右側のモードに近い部分がけずられていき，同時に大きい精巣をもつものがますという変化をたどっているが，1957年には5月から6月中旬にかけてはモードは2ｇにあり，一方，6月中旬から1ｇのものの数がまし，6月下旬以降は1ｇにモードがうつる。1ｇにモードをもつものは，漁期がおわるまでその状態をかえないが，より大きい精巣をもつものは，時間と共に分布が大きい方にうつっていく。オホーツク海では，1956年には6～7月共に，1957年には7月に入ると，1ｇの精巣をもつものがかなり出現するが，大部分はより大きい精巣をもち，時とともにそれは大きい方にうつっていく。



第15図 生殖素重量分布，カラフトマス，♀，1957年 北太平洋(除ベーリング海).



第16図 生殖素重量分布，カラフトマス，♂，1957年，北太平洋(除ベーリング海).

カラフトマス（第15～16図）：カラフトマスの生殖素重量分布は，雌雄ともに，ベニザケにみられた分布から，その小さい方の峰に属する部分をとりのぞいた形と全くおなじである。

以上のべたことを要約すると，ベニザケは雌雄ともに，漁期中その位置や形をかえないで，終漁期には大きい割合をしめるようになる小さい生殖素をもったものと，季節とともにモードが大きい方にうつっていく大きな生殖素をもった二つの分布群がはっきりと存在する。そして，その小さい方の分布群はオホーツク海での漁獲物中にはあらわれない。シロザケは，ベニザケほどには互の分離が明瞭ではないが，2峰の分布をしめし，同じような季節的変化をしめす。ただし，ベニザケとちがいオホーツク海にも小さい方の峰に相当する分布群があらわれる。そして，すべての個体が産卵に参加するはずのカラフトマスではベニザケの大きい方の峰に属するものと同じ傾向の季節的な変化をしめす。なお，つけ加えるべき事実として，1956年の方が1957年にくらべて，ベニザケ，シロザケともに小さい方の峰に属するものの出現の割合が，大きい方のものにくらべて大きいことに注意しなければならない。

これらのことから，よういに考えられることは，小さい方の峰に属する個体は，その年には性成熟に達しないでおわるのではないかということである。その理由は，第1に，成育域でないオホーツク海には，ベニ

ザケでは小さい方の峰がまったくあらわれず，シロザケではあらわれてもその量がきわめて少い。また，大きい方の峰のものは時とともに大きい方にうつっていくのに，小さい方は漁期中，位置や形をかえず，終漁期に近ずくほど組成中での割合をます。そして，全部成熟するカラフトマスには小さい方の峰にあたる部分は全くみられないということである。

この推定が正しいとすれば，ベニザケ，シロザケともに2峰の分布の谷にあたる雌20ｇ，雄2ｇあたりを境に，それより小さい生殖素をもったものはその年に産卵しない魚，大きいものは産卵する魚と区分することができる。もちろん，それは分布が2峰に分れる6月中すぎ以降についてのみいえることである。

未成魚と考えられるものの吟味

前項で，その年に産卵せずにおわるのではないかと推定したベニザケ，シロザケを大量に漁獲したのは，1956年7～8月に173°E以西53°N以北の水域で操業したA丸船団である。それ故，1956年のA丸で測定した資料を検討してみた。ベニザケとシロザケについて，月別に 7～8月 のものについて，雌は20ｇをふくめて以下のものと，それ以下のものと，それ以上のもの，雄は2ｇをふくめて以下のものと，それ以上の生殖素をもつものにわけて，その体長頻度分布をひろってみた。第1表にベニザケ，第2表にシロザケを示した。それぞれの場合とも，生殖素重量の小さい方の区分に入る個体の体長は，大きい方の区分に入るものにくらべて小さい方に偏っている。

第1表　1956年7～8月に母船A丸で測定したベニザケの生殖素重量別の体長（F.L.）分布

G.W.区分 ＼ 体長階級	7月，♀		7月，♂		8月，♀		8月，♂	
	20g≧	20g＜	2g≧	2g＜	20g≧	20g＜	2g≧	2g＜
41cm	1							
2	1		1	1				
3								
4	8		7	1			1	
5	4		11	4	5		4	
6	11	2	21	2	8	1	6	
7	12	5	34	7	10		15	
8	18	10	50	9	14	1	29	
9	12	15	56	10	9	3	29	
50	19	14	50	11	9	2	40	
1	7	21	38	5	4	1	13	
2	10	17	33	19	9	3	14	1
3	5	20	21	26	1	2	13	
4	2	18	14	11	2	1	7	1
5	1	22	9	9		1	3	
6		22	5	8	1		3	
7		14	5	6			1	1
8	1	13	5	7				
9		11	4	8		1	1	
60		8		13				
1		5		11				
2		3		4				
3		2		8				
4		1		2				
5				4				
6				2				
7				2				
8				1				

第3～4表に1956年の6～7月の北太平洋（ベニザケは175°E以東の水域を除いた）一般の年齢別体長分布を示したが，それとA丸の上述の結果とをくらべると，A丸がとった小さい方の区分に入る生殖素重量をもったベニザケの体長は，海洋で2冬をすごした年齢4―2，5―3のそれと大体一致していることがわかる。シロザケの場合は一般の4年魚と5年魚の体長のちがいがあまりないので，ベニザケのようなことはいえない。

第2表　1956年7～8月に母船A丸で測定したシロザケの生殖素重量別の体長（F.L.）分布

体長階級 ＼ G.W.区分	7月，♀ 20g≧	7月，♀ 20g＜	7月，♂ 2g≧	7月，♂ 2g＜	8月，♀ 20g≧	8月，♀ 20g＜	8月，♂ 2g≧	8月，♂ 2g＜
40cm			1					
1	1							
2					1			
3			2		1			
4	1				1			
5	3				2		1	
6	1		4		2			
7	7		6		3			
8	15		9		4		5	
9	21		12	1	1		6	
50	60		24	1	5	1	9	
1	57	2	34		7	1	15	
2	69	6	48	6	23		15	1
3	66	7	45	6	12	2	11	2
4	57	3	38	4	18	1	22	2
5	18	7	42	6	11	3	9	2
6	14	15	29	7	12	7	13	1
7	7	8	15	1	5	1	8	3
8	2	13	10	6	3	2	3	
9	1	5	3	7		4	4	2
60	1	7		6			3	
1		9		5			1	
2		2		2				1
3		1		1				
4				4				
5								
6		1	1					
7		2						
8								
9				1				
70				1				

第3表　1956年の175°E以西北太平洋，ベーリング海水域の母船漁獲物について調べたベニザケの6～7月の主要年齢別体長分布および年齢組成

体長階級 ＼ 月・年齢	6月 4—2 ♀	6月 4—2 ♂	6月 5—3 ♀	6月 5—3 ♂	6月 5—2 ♀	6月 5—2 ♂	6月 6—3 ♀	6月 6—3 ♂	7月 4—2 ♀	7月 4—2 ♂	7月 5—3 ♀	7月 5—3 ♂	7月 5—2 ♀	7月 5—2 ♂	7月 6—3 ♀	7月 6—3 ♂
40cm	1								1							
1									1							
2		1							3	3						
3				1					2	3	1	4				
4	1	2							9	9	5	5				
5	1	1		5					8	16	13	13				
6	2	3	1	6	1		1	1	12	24	11	25	1	1		
7	4	7	10	19	2	1	2		13	31	21	43	1	2		
8	11	9	23	27	1		4	1	9	39	43	50	4	4	1	
9	18	13	31	62	4	3	3	3	9	27	41	65	4	5	2	2
50	28	22	42	43	7	1	6	5	11	34	55	76	12	4	6	2
1	9	24	57	43	8	9	6	3	11	22	41	76	9	1	6	1
2	9	28	55	55	11	2	9	7	7	24	79	67	18	10	3	5
3	13	35	56	49	11	9	19	17	8	14	35	68	11	11	8	4
4	8	15	40	50	36	11	30	8	4	5	21	42	13	8	11	5
5	2	10	30	35	29	4	53	16	1	9	15	25	17	8	18	10
6	1	6	9	26	45	8	48	10	1	2	8	22	14	6	41	11
7		1	8	18	33	6	61	13	1	2	3	7	16	12	42	7
8	1	1	5	11	30	17	52	13		2	1	1	18	6	46	13
9	1	1	4	1	21	11	38	22	1		1	2	16	5	42	16

月	6月								7月							
年令	4—2		5—3		5—2		6—3		4—2		5—3		5—2		6—3	
体長階級	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
60cm			1	1	13	15	29	33			3		11	9	31	13
1		1	1	2	4	14	13	24			1	2	5	12	7	7
2	1			1		15	6	13					3	6	4	5
3					1	14		8					4	8	2	5
4						4		6				1	1	1	1	2
5						3		1						2		2
6						2		1								
7														2		
8														1		
計	110	180	373	455	257	149	380	205	112	266	398	594	178	124	271	110
組成比%	13.7		39.3		19.3		27.7		18.4		48.4		14.7		18.6	

第４表 1956年の北太平洋，ベーリング海水域の母船漁獲物について調べたシロザケの６～７月の年齢別体長分布および年齢組成

月	6月								7月							
年齢	3		4		5		6		3		4		5		6	
体長階級	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
41cm										1						
2									1							
3		2		1					4	2						
4		2	2						5	4						
5	3	7	1		2				9	13						
6	1	7	4	4		2			8	28	3	2				
7	1	11	15	7	4	2			11	32	13	8	2			
8	3	11	29	17	7	8			19	35	25	16	6	2		
9	4	6	64	43	27	15			19	41	54	30	21	5		
50	1	9	74	83	66	47			16	38	81	60	48	16		
1	3	7	89	113	97	72		1	17	37	116	70	66	28		
2	2	6	89	98	138	101	2		12	32	101	91	78	57	1	
3	2	4	64	77	165	139		1	10	27	94	124	107	72	1	
4	1	4	55	71	131	133	2		8	13	59	78	97	78	1	
5		1	77	63	141	141	2	2	7	13	39	62	81	86	1	
6	1		57	39	166	107	2	1	3	5	36	41	74	71		1
7	1	1	49	36	154	74	4	2	1	6	40	30	61	53	2	1
8		1	39	28	160	58	5	2	3	6	31	25	80	54	2	1
9			33	25	146	55	3	3	3	3	33	15	48	36	2	1
60			18	21	125	51	2	3	2	5	28	16	46	24	2	1
1			9	15	67	27	4		1		25	8	39	15	2	
2			5	13	32	26	1	2			15	11	21	7	1	
3			3	6	23	16				1	9	6	12	10	1	1
4				1	11	9					7	4	6	11		
5			1	1	5	8					1	3	10	2		
6						2					1		1	3		
7					1	3						1	2	1		
8						1							1			
9													1	1		
計	23	79	777	762	1668	1097	27	17	159	342	811	701	907	632	16	6
組成比%	2.3		34.6		62.2		1.0		14.0		42.3		43.1		0.6	

第５表に示したＡ丸の標本年齢組成は，その時の年齢組成がベニザケでは４—２，５—３がおおく，とくに８月にはほとんどが，それらのみからなっていることをしめしている。シロザケでは，Ａ丸のものは３～６年で構成され，他のものにくらべてむしろ高年の５年魚の割合が多い傾向をしめしている。

ベニザケの年齢４—２，５—３というものは一般の商業漁獲の対象になっているものであり，その年齢で

第5表　1956年7～8月に母船A丸で漁獲したベニザケ，シロザケについて調べた漁獲物標本年齢組成

ベニザケ

月＼年齢	4—2	5—3	6—4	4—1	5—2	6—3	7—4	6—2
7月 ♀	44	128	4	—	90	51	1	8
7月 ♂	146	240	5	1	73	40	—	7
8月 ♀	35	31	1	—	10	2	—	—
8月 ♂	89	66	—	—	10	3	—	—
組成比%	28.9	42.9	0.9	0.1	16.9	8.8	0.1	1.4

シロザケ

月＼年齢	3	4	5	6
7月 ♀	15	131	317	1
7月 ♂	17	123	236	1
8月 ♀	10	28	72	—
8月 ♂	16	34	62	—
組成比%	5.5	29.7	64.6	0.2

性成熟に達するものは多い。また，シロザケで年齢3～6年というのは，一般の商業漁獲魚と全く同じ年齢の範囲である。

以上のようなことから，ベニザケ，シロザケともに，その年には産卵しないのではないかと推定されたものは，年齢や体長についてみた場合，その年産卵するものと本質的なちがいはみとめられない。その年齢や体長は小さい方に偏ってはいるが，一般にそのような小さな体長や若い年齢でも大きな生殖素をもち，明らかにその年産卵すると推定される個体が沢山みられるのである。

このようにみてくると，未成魚と推定されたものは，条件のいかんではその年に性成熟に達しえたものであるにかかわらず，成熟が1年おくれたものであろうという推定がうまれてくる。もしそうであれば，そのような個体の出現が多かった1956年の状態は，何等かの形で1957年にあらわれるはずである。

第6表に1957年の北太平洋のベニザケとシロザケの商業漁獲物の年齢組成を示した。これを第3～4表の1956年の組成とくらべると，ベニザケの場合，1956年の主群である年齢4—2，5—3がさらに1冬こしたものにあたる5—2、6—3が大きい割合をしめていることは明らかである。それ故，1956年に4—2、5—3の年齢で小さい生殖素をもっていた個体がそれに相当するのであろうということはよういに推定される。

第6表　1957年6～7月の170°E以西北太平洋，ベーリング海水域の母船漁獲物について調べたベニザケ，シロザケの標本年齢組成

ベニザケ

月＼年齢	4—2	5—3	6—4	7—5	4—1	5—2	6—3	7—4	6—2	7—3	8—4
6月 ♀	39	190	130	—	3	535	939	154	25	8	—
6月 ♂	45	285	188	—	—	388	623	115	13	4	—
7月 ♀	42	269	292	1	—	554	1151	222	4	1	—
7月 ♂	47	337	343	1	1	402	716	139	3	3	1
組成比%	2.1	13.2	11.6	0.0	0.0	22.9	41.7	7.7	0.5	0.2	0.0

シロザケ

月＼年齢	3	4	5	6
6月 ♀	59	1119	448	81
6月 ♂	128	1064	222	65
7月 ♀	36	96	6	4
7月 ♂	42	76	10	3
組成比%	7.7	68.2	19.8	4.4

シロザケでは1956年に主群であった5年のものが1957年には少くなり，かわりに6年のものがましたということは，1956年の5年のものの一部が更に1冬をこして，'57年に漁獲に入ったことを意味するとおもわれる。ただし，1956年と'57年ではシロザケの場合，漁獲量にかなりのちがいがあるので，このような相対値のちがいほどには6年のものは多くなかったと考えられる。

1956 年はベニザケの資源量は周期のピークに当り，かなり大きいものであったと推定されるから，このような場合には個体の成長がわるくなり，資源量の小さい時にくらべれば，性成熟のおくれるものの割合がますのではないかということが，一般的な理論から推定されるが，上記の事実はそれと一致する。

ベニザケとシロザケにみられたちがい

ベニザケとシロザケでは生殖素重量の頻度分布の変化の状態に，基本的な点では共通しているが，いくつかのちがいがあった。このようなちがいがなぜおこるかということは興味が深い。あらためて，その相異点をあげると，シロザケの場合は2峰の分離がベニザケほど明瞭でないことと，オホーツク海にも小さい方の峰にあたるものがあらわれるという2点に集約される。前者はおそらく，シロザケの性成熟に達する年齢の範囲が広いので，その年に成熟する個体でも，生殖素の大きくなりはじめる時期がかなり巾があるということ，カムチヤッカに上るシロザケ（ナツザケ）と，北海道のアキザケのように産卵期の非常にちがうストックが同じ水域に分布しているというようなことが原因しているのではないかと考えられる。したがって，未成魚と推定されるものでも，おそくなって生殖素が大きくなり産卵するものもあるであろうことが考えられる。また，個体の生殖素の重量の時期的な変化それ自体にもベニザケとシロザケの間でちがいがあるのかもしれない。あるとすれば，それはベニザケとシロザケの成育域，あるいは発育のそれぞれの段階における魚群行動のちがいなどの反映であろうと思われる。いずれにせよ，今後検討して興味のある，しかも重要な問題である。

未成魚と推定されるものの出現状態

1956 年と '57 年の両年について，旬ごとに，緯度2度，経度5度の水域別に，ベニザケとシロザケについて，上記の推定の基準で未熟魚と考えられるものの混入比を調べてみた。その詳細な結果は，ここには示さないが，大まかにいえることは，カムチヤッカ半島東岸沖合では，ベニザケ，シロザケともに，漁期のおわりの7月中旬以降，大体52°Nをさかいに，それ以北の水域には，その南の水域にくらべて混入比が高く，また，いずれの水域でも，その水域の盛漁期がおわったあとで急に混入比がますのがみとめられる。

謝　　　辞

この報告に使つた資料の種々の集計は北海道区水産研究所の 1957 年に特設され1年間で改組された旧北洋資源部のスタッフの人達によっておこなわれた。乏しい費用や時間の制約のもとに協力して戴いたこれらの方々に厚く感謝する次第である。また，母船において測定に従事された監督官および会社調査員の諸氏，資料の作成に努力された水産庁海洋一課，研究一課の方々に深く感謝する。終りにこの仕事を行う機会を与えられた調査研究部長藤永博士および旧北洋資源部長平野義見氏，および発表に当つて種々助言いただいた沿岸資源部長佐藤栄氏に感謝の意を表する。

補　記

本文中に使用した年齢，体長分布は漁獲高によつて重みずけしておらず，標本組成を単純に集計したものであるから，漁獲物の組成を代表するものとは限らない。

汽水湖の利用
第1報　能取湖の水質について

黒田久仁男・小原 昭雄・田中 正午

Studies on the Utilization of Brackish Lakes
I. Limnological observations on Lake Notoro

By

Kunio KURODA, Akio OBARA and Shōgo TANAKA

1) The quality of the water of Lake Notoro was investigated seasonally at about one month's intervals from June 1956 to February 1958.

2) Bottom water stagnation begins in summer or in autumn, resulting in oxygen deficiency and hydrogen sulfide generation in bottom zones (about 20m.). But on account of the limited area of the stagnant zones, there are no serious effects on general fishery production of this lake.

Seasonal or annual variations in water quality were not maked except in these deeper zones. As for nutitional components, Lake Notoro can not be regarded as being typically eutropic, but good absorption and utilization of nutritional substances by algae ecology can be expected from the rather large dimensions of the lake and the adequate circulation of the lake water.

3) The pollution of lake water by waste materials from starch factories was observed only in the vicinity of each factory. The polluted area disappears in spring when the lake water begins to cicrulate.

I 緒　言

本湖は網走市能取に存在し，周囲 31.01km，面積 59.34km^2，湖水量 248,400,000m^3，平均深度 9.05m，最大深度 21.2 m を有する汽水湖であって，その水質については 1932 年 7 月 および 10 月に 高安， 近藤氏等[1]により詳細な報告がなされている。

著者等はオゴノリ増殖上から見た能取湖の水質について， 1956 年 6 月から 1958 年 2 月にかけて時期別の変化，ならびに年次による差異を調査したので，ここにその結果の概略を報告する。

なお，本湖の調査については網走市ならびに西網走漁業協同組合にその調査費の援助を得た。また本調査に当っては，高安三次氏に絶えず御指導を仰ぎ，かつ，御校閲の労をとられた。ここに謹んで厚く御礼申上げる次第である。

II 調　査　方　法

本湖の水質採水箇所は Fig. 1 に示す通りであるが， この中アルフアベツト順の地点は 地元オゴノリの成育している浅いところで，また，その数箇所（特に能取 c 点，平和 d 点）は澱粉工場廃水の影響ある地点である。

1956 年度は深所の水質に重点を置き，1957 年以降は，浅所の水質に重点を置いて時期別に採水し調査した。

水質については，現地では水温，P_H および重炭酸塩などを測定し，溶存酸素は Winkler 氏の方法で固定してから，その他の成分と共に実験室に持ち帰って定量した。

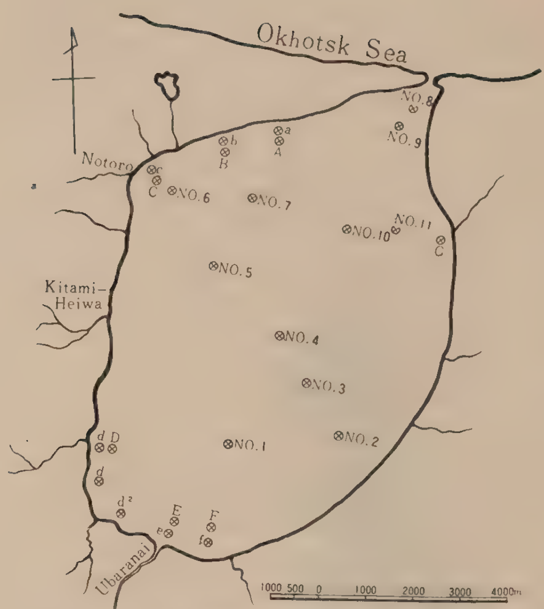


Fig. 1. Map Showing the Stations of Sampling.

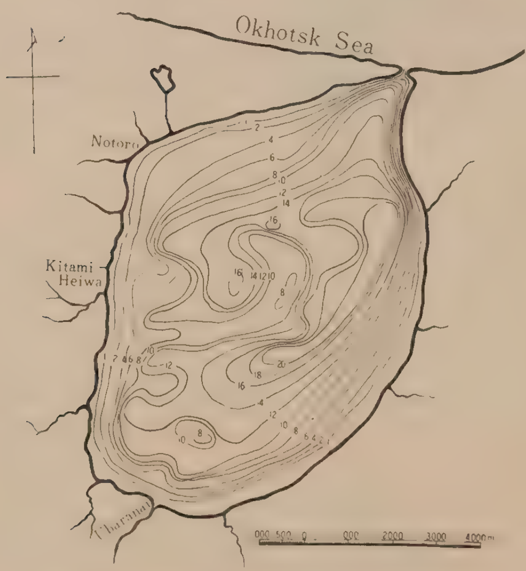


Fig. 2. Isobathic map of Lake Notoro.
(from Takayasu, 1932)

なお，定量法については著者等のさきに報告した方法[2]によった。

III 結果と考察

(Table 1〜13参照)

本湖は塩素が12g/ℓ前後の半鹹水湖であって，Table 1〜13に示すように春季には湖口の開口によって（湖口は9月から11月にかけて例外なく波浪で閉される）湖内に蓄積した雨雪水の放出後，比重の高い寒冷な海水の注入が起り，したがって湖底水は攪拌される傾向を示す。夏から秋にかけて深部の水質は一部停滞し，下層水は酸素が減少し硫化水素の発生が見られ（定性），特に燐酸塩の蓄積がはなはだしい。したがって，この時期における深部（20m前後）の水質は水族の生活には全く不適当である。しかし，この停滞水層は極めて小範囲に過ぎないから水産上の影響は少いものと思われる。この停滞水層を除いては各地点共各時期の水質の変化は表層から中層にかけて酸素は豊富であり（7cc/ℓ前後）また，その他の測定成分について見てもはなはだしい差異は認められない。なお，また年次における水質を比較して見ても大同小異で，これを1932年の高安，近藤氏等[1]による調査結果と比較して見ても塩分量が若干低下したのみで，その他の成分については，はなはだしい差異は認められない。

すなわち，高安氏等の結果中，著者等の観測点と同一地点の No. 11 の結果の一例を比較して見ると次のようになる。

なお，高安氏の調査は1932年10月30日採水のもので，著者等のは1957年10月15日のものである。

	高安氏 表層〜底層	著者等 表層〜底層
PH	8.4 〜7.65	8.4 〜7.0
O_2 cc/ℓ	5.02 〜0.0	5.98 〜0.0
SiO_2 ppm	1.38 〜5.96	1.10 〜3.60
P_2O_5 〃	0.006〜0.84	0.036〜0.62
Cl 〃	14490〜17425	12470〜14831

このように本湖の水質の時季別変化や年次変化の少いことは，水深が深く湛水量が豊富であって，かつ，また水質が常に流動していることを示すものであろう。すなわち，本湖は富栄養型ではないが，植物に吸収利用されるところの汽水湖といえよう。

また，澱粉工場廃水の影響については，澱粉工場操業時期より特に冬にかけて，廃水注入口附近の沿岸の水質は一般に汚染され，溶存酸素量が少く有機物が増大の傾向を示している。しかし，この汚染区域は，廃水口附近の極めて小部分に過ぎず，春季の水質の交流の起る頃は全く常水に復活している。

IV 要　　約

1) 能取湖の水質について1956年6月から1958年2月にかけて，時季別にその変化を調査した。

(Table 1～13参照)

2) 本湖の水質は夏から秋にかけて停滞がはじまり，最深部（20 m 前後）では酸素の減少と共に硫化水素の発生が見られた。しかし，この区域は小範囲に過ぎないから水産上の影響は少いものと思われる。この最深部を除いた各地点の水質は，時季別変化や年次変化の大きな差は認められなかった。なお，また栄養塩については，富栄養型ではないが，湛水量の多いことや，水質の流動性から見て，植物に吸収利用されるところの汽水湖であるといえる。

3) 澱粉工場廃水の水質汚濁は，注入口沿岸の小区域に限られるが，この汚濁現象は春季の水質の交流時季には解消する。

文　　献

1) 高安，近藤（1934）：水産調査報告，第36冊.

2) 黒田，桶作（1956）：本　報　告，　(14).

Table 1. Limnological Observation of Lake Notoro.

Station		No. 1	No. 2	No. 4		No. 5		No. 6	No. 7	No. 8	No. 9	No. 10	
Depth of Sampling	m	0.0	0.0	0.0	10.0 (Bottom)	0.0	13.0 (Bottom)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	16.5 (Bottom)
Date		June 26, 1956	〃	June 28, 1956	〃	〃	〃	June 26, 1956	〃	〃	〃	June 28, 1956	〃
Time	h.m	13.20	13.00	8.30	8.40	8.55	9.05	10.15	11.0	11.40	12.00	10.20	10.30
Weather		C	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃
Direction of wind		N E 2	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃
Air Temp.	°C	14.3	15.2	15.4	—	16.2	—	11.5	12.1	12.4	13.1	13.6	—
Water Temp.	°C	14.4	14.4	14.5	13.2	14.7	13.3	14.1	14.0	14.4	14.2	14.7	13.0
PH		8.0	8.05	8.0	8.05	8.05	8.0	8.05	8.0	8.0	8.0	8.0	7.95
O_2	cc/ℓ	6.13	6.08	6.53	6.05	6.03	3.86	5.99	6.07	6.06	6.23	5.82	5.25
Oxygen Consumed (as $KMnO_4$)	ppm	4.74	9.80	5.37	6.64	5.69	6.01	4.43	3.80	5.06	5.69	9.17	12.33
SiO_2	ppm	1.55	1.50	1.57	1.55	1.47	2.23	1.53	1.37	1.47	1.52	1.50	2.50
P_2O_5	ppm	0.030	0.029	0.028	0.028	0.028	0.128	0.027	0.028	0.028	0.027	0.029	0.116
N_2O_5-N	ppm	0.010	0.010	0.014	0.049	0.012	0.031	0.012	0.023	0.011	0.013	0.013	0.013
NH_3	ppm	0.112	0.081	0.085	0.094	0.060	0.068	0.056	0.058	0.048	0.047	0.041	0.046
HCO'_3	ppm	111.0	112.2	115.9	115.9	118.3	115.9	119.6	119.6	122.0	119.6	118.3	122.0
Cl	ppm	12547.8	12351.8	12743.9	12874.6	12743.9	13911.2	12940.0	12940.0	12940.0	12907.3	12874.6	14312.4

Station		No. 9	No. 10		No. 11			d[1]
Depth of Sam	)	0.0	0.0	16.2 (Bottom)	0.0	10.0	18.0 (Bottom)	0.0
Date		〃	〃		July 28, 1956	〃	〃	July 26, 1956
Time	0	14.20	12.55	13.00	13.30	13.40	13.50	12.40
Weather		B C	C	〃	C	〃	〃	R
Direction of W		S E 2	S E 1	〃	S E 1	〃	〃	N E 2
Air Temp.		27.0	22.5	—	25.0	—	—	22.5
Water Temp.		20.6	19.8	14.6	19.7	17.2	11.7	22.0
P_H		8.0	8.0	7.8	8.0	7.95	7.8	8.10
O_2	8	5.83	3.23	1.49	5.96	6.56	2.56	8.08
Oxygen Consu (as $KMnO_4$)	7	5.69	6.00	6.64	5.37	4.74	5.69	11.38
SiO_2	0	1.35	1.53	3.45	1.70	2.15	3.75	2.65
P_2O_5	22	0.013	0.014	0.310	0.019	0.068	0.200	0.026
N_2O_5-N	11	0.010	0.010	0.019	0.011	0.011	0.098	0.022
NH_3	65	0.023	0.018	0.290	0.015	0.035	0.105	0.078
HCO'_3		122.0	118.3	134.2	115.9	125.7	134.2	92.7
Cl		13314.7	13280.6	14847.1	13280.6	14506.5	14608.7	12395.2

Station		No. 9	No. 10		No. 11			d[1]
Depth of Sam	)	0.0	0.0	16.5 (Bottom)	0.0	10.0	20.0 (Bottom)	0.0
Date		〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃
Time	0	12.30	11.55	12.00	14.20	14.15	14.05	8.45
Weater		〃	C	〃	B C	〃	〃	C
Direction of W		〃	S W 2	〃	E 2	〃	〃	S W 2
Air Temp.		19.8	20.8	—	21.0	—	—	19.0
Water Temp.		18.9	18.8	12.9	18.9	17.0	12.2	19.1
P_H		8.0	8.0	7.8	8.0	8.0	7.95	8.0
O_2	0	6.19	5.84	0.0	6.03	4.34	3.58	5.23
Oxygen Consu (as $KMnO_4$)	7	7.02	7.72	8.43	8.07	5.97	5.62	8.43
SiO_2	8	1.00	0.78	4.60	1.45	1.45	2.05	1.45
P_2O_5	13	0.009	0.011	0.610	0.061	0.061	0.158	0.029
N_2O_5-N	13	0.009	0.009	0.015	0.010	0.010	0.017	0.008
NH_3	50	0.060	0.072	0.340	0.082	0.072	0.120	0.100
HCO'_3		111.0	119.6	162.3	114.7	114.7	135.4	113.5
Cl		12584.4	13057.8	15779.8	12821.1	14310.2	14477.0	12623.9

.	A		C		d	E		G	
0.	0.0	2.0	0.0	2.3	0.0	0.0	2.0	0.0	2.0
		(Bottom)		(Bottom)			(Bottom)		(Bottom)
″	″	″	″	″	″	July 12, 1957	″	July 17, 1957	″
10.	13.50	14.00	14.35	14.40	15.50	8.15	8.25	10.55	11.00
″	″	″	″	″	″	B C	″	″	″
″	″	″	″	″	NE 2	S 3	″	NE 3	″
16.	22.0	—	24.5	—	22.5	22.0	—	23.0	—
17.	22.8	22.3	22.5	22.4	26.5	19.7	19.4	20.2	19.2
8.	8.4	8.4	8.4	8.5	8.6	8.35	8.0	8.4	8.35
5.	6.33	6.36	6.32	6.09	8.19	5.69	7.65	5.78	5.90
9.	7.13	7.43	8.49	9.34	11.04	9.34	9.00	7.64	7.60
1.	0.56	0.56	0.88	0.85	1.65	0.35	0.40	0.50	0.48
0.	0.027	0.027	0.026	0.024	0.035	0.011	0.012	0.027	0.021
0.	er 0.005	0.006	under 0.005	0.007	under 0.005	0.006	0.006	under 0.005	″
0.	117.4	117.4	114.4	111.5	114.4	117.4	117.4	117.4	120.3
22.	910.4	12910.4	12960.6	13010.9	13262.0	12659.2	12759.7	12960.6	12960.6
22.									

	A	C		E		G		A	
4.	2.2	0.0	2.1	0.0	2.5	0.0	2.0	0.0	1.5
ttom	(Bottom)		(Bottom)		(Bottom)		(Bottom)		(Bottom)
. 2 957	″	″	″	Aug. 4, 1957	″	Aug. 7, 1957	″	Aug. 23,	″
2.0	15.25	15.50	16.00	8.15	8.25	14.40	14.45	11.50	12.00
C	″	″	″	″	″	C	″	B C	″
4	″	″	″	SE 2	″	NE 2	″	W 3	″
-	—	18.6	—	18.2	—	20.0	—	26.5	-
1.	19.2	20.6	20.2	21.1	21.4	20.8	20.6	24.8	24.8
8.5	8.35	8.35	8.35	8.3	8.3	8.35	8.35	8.35	8.40
8.4	5.69	6.58	6.36	5.21	5.58	5.30	5.30	5.84	5.85
5.7	7.22	7.39	7.56	7.22	7.56	6.53	7.04	8.25	8.93
2.0	1.85	1.45	1.70	1.75	1.75	1.40	1.50	1.13	1.45
0.18	0.018	0.042	0.031	0.017	0.017	0.018	0.025	0.017	0.017
″ 05	″	″	″	″	″	″	″	″	″
	117.4	120.3	117.4	117.4	117.4	117.4	117.4	123.3	123.3
2.	12719.4	12719.4	12616.0	12616.0	12874.5	12771.1	12822.8	12667.7	12616.0
0.									

Station	
Depth of Sampling	m
Date	
Time	h.m
Weather	
Direction of Wind	
Air Temp.	°C
Water Temp.	°C
P_H	
O_2	cc/ℓ
Oxygen Consumed (as $KMnO_4$)	ppm
SiO_2	ppm
P_2O_5	ppm
N_2O_5-N	ppm
HCO_3'	ppm
Cl	ppm

Station	
Depth of Sampling	m
Date	
Time	h.m
Weather	
Direction of Wind	
Air Temp.	°C
Water Temp.	°C
P_H	
O_2	cc/ℓ
Oxygen Consumed (as $KMnO_4$)	ppm
SiO_2	ppm
P_2O_5	ppm
N_2O_5-N	ppm
HCO_3'	ppm
Cl	ppm

	D		d	d²	E		e	F	
5	0.0	1.0	0.5	0.5	0.0	1.5	0.5	0.0	1.0
n)		(Bottom)	(Bottom)	(Bottom)		(Bottom)	(Bottom)		(Bottom)
	Nov. 25, 1957	〃	〃	〃	〃	〃	Nov. 25, 1957	〃	〃
10	10.55	11.00	11.05	11.25	10.30	10.35	10.25	11.55	12.00
	C	〃	〃	〃	〃	〃	C	〃	〃
	S 2	〃	〃	〃	〃	〃	S 2	〃	〃
·)	3.0	—	2.8	2.7	3.2	—	4.1	3.0	—
3	4.0	4.2	1.6	2.8	2.4	4.0	2.3	4.4	4.4
2	8.35	8.25	8.35	8.25	8.0	8.1	8.1	8.15	8.15
36	7.97	7.68	7.66	7.66	7.75	7.44	7.74	7.72	7.70
10	6.67	6.37	6.37	7.58	7.58	6.67	8.19	6.37	6.63
93	0.74	0.74	0.74	0.86	1.98	0.75	2.15	0.73	0.73
039	0.056	0.054	0.044	0.45	0.041	0.058	0.040	0.049	0.048
	〃	〃	〃	〃	〃	〃	0.008	under 0.005	〃
4	117.4	〃	〃	114.4	111.5	114.4	111.5	117.4	117.4
0	12540.2	〃	12353.9	12416.0	11609.0	12540.2	11546.9	12540.2	12540.2

D		d	d²	E		e	F		f
0.0	2.0	1.0	0.7	0.0	1.4	0.5	0.0	1.5	0.8
	(Bottom)	(Bottom)	(Bottom)		(Bottom)	(Bottom)		(Bottom)	(Bottom)
'eb. 6, 1958	〃	〃	Feb. 6, 1958	〃	〃	〃	〃	〃	〃
11.40	11.45	11.30	12.20	13.20	13.25	13.00	13.45	13.50	14.00
S	〃	〃	S	〃	〃	〃	〃	〃	〃
NW 1	〃	〃	NW 1	〃	〃	〃	〃	〃	〃
-3.5	—	-2.6	-2.8	-2.0	—	-2.5	-2.0	—	-2.8
-0.7	-0.3	-1.0	0.2	0.0	-0.2	0.0	0.0	-0.1	0.0
7.3	7.7	7.5	6.9	6.6	7.6	6.6	6.7	7.25	6.9
5.73	4.84	3.09	1.28	7.74	6.24	6.86	7.70	5.12	4.85
10.92	11.67	11.28	8.80	10.01	7.28	10.01	10.01	7.28	8.49
8.50	1.05	1.05	20.50	35.00	1.28	29.50	29.0	8.50	8.50
0.019	0.071	0.071	0.024	0.043	0.073	0.046	0.035	0.066	0.061
0.005	under 0.005	〃	0.016	0.033	under 0.005	0.036	0.035	0.0009	0.007
117.4	123.2	129.1	82.2	67.5	117.4	64.5	64.5	114.4	99.8
0722.4	12688.2	12509.5	6076.0	893.5	12688.2	8041.8	8041.8	9471.5	9650.2

Fish silage に関する研究—I
酸 silage および醗酵 silage の製造について

宇野　勉・徳永 俊夫・中村 全良

Studies on Fish Silages – I
On the processing of acid silages and fermented silages

By

Tsutomu UNO, Toshio TOKUNAGA and Masayoshi NAKAMURA

1. Pollack (*Theragra chalcogramma*) viscera, saury (*Cololabis saira*) and "Ikanago" (*Ammodytes personatus*) were ensilaged by sulphuric acid, formic acid, molasses, sulphuric acid-formic acid and sulphuric acid-molasses, respectively. Investigations have been made on the changes of P_H, and on the behaviour of proteins and volatile bases in these fish silages. It seemed that sulphuric acid-formic acid and sulphuric acid-molasses silages were superior to other silages on keeping quality and chemical components.

2. Studies were made on fermented silages to which were added the media of Lactobacillus delbruckii and Lactobacillus plantarum.

The influences of amount of the media and molasses, freshness of the materials and ensilaging temperature on the quality of silages were discussed.

Materials should be ensilaged so as to reduce P_H to 4.5 within the shortest time possible. Twenty-five degrees C proved to be favourable for the practice. At least 10% molasses was needed. It was desirable that materials be as fresh as possible. At 25°C, quick reduction of P_H depended on the initial content of L. delbruckii, but the content of L. plantarum seemed of little importance. In point of quality it was more desirable to ferment fish silage by L. delbruckii than by L. plantarum.

緒　　言

魚類より煉製品，塩乾品，罐詰等を製造する場合には原料の 40 ～ 60 %が廃棄物となり，これより荒粕を製造すると煮熟中大部分が液化して残るところが少い。また，これ等の廃棄物には蝿，蛆等が着生し易く可及的に迅速に処理することが望ましい。一般の魚粕（身粕）も一時に多獲され鮮魚，あるいは食品加工向けとして処理しきれないときに製造される場合が多く，原料魚の鮮度低下により魚粕の収量は減少し，煮汁中へ有効成分が流出し損耗が多い。これ等の資源の有効利用という見地からは，大量の原料を簡易な設備と操作で一時に処理することが必要となる。

その対策として清水等[1]は魚類副産物に穀物，およびその副生物，おがくず等を添加して貯蔵する方法を発表しているが，保蔵効果，並びに飼料価値等の点からは魚類，またはその廃棄物に硫酸，塩酸，蟻酸等の有機，および無機酸を添加し，あるいはこれに糖質および有用細菌を添加醗酵せしめて貯蔵性を賦与し，場合によってはその飼料価値を増大せしめるようないわゆる Fish silage 法が最も適当な方法ではなかろうかと考えられる。

Acid silage については H. PETERSON,[2] H.C. FREEMAN および P.L. HOOGLAND,[3] エリ。エリ。ラグノフ等[4] の発表があり，醗酵 silage については R. KREUZER[5] の研究および L.K. CARL[6]，多田等[7] の特許がある。

筆者等は北海道産の魚粕向け魚類，並びに魚類廃棄物を原料とし，硫酸，蟻酸，糖蜜，乳酸菌等を単独に

または併用して添加し製造する Acid silage および醗酵 silage について検討し，特に醗酵 silage については Lactobacillus delbruckii と L. plantarum の比較を行ったので，その概要について報告する。

なお， L. delbrukii は北海道大学応用菌学教室より，また L. plantarum は東京大学応用微生物研究所より分譲をうけたものであり記して深謝の意を表す。

実　験　法

スケトウダラ (*Theragra chalcogramma*) の内臓，サンマ (*Cololabis saira*)，イカナゴ (*Ammodytes personatus*) 等を原料とし，肉挽機にかけて細砕し，これに硫酸，蟻酸，糖蜜または starter として乳酸菌培養液を添加し，一定温度に貯蔵して官能検査による品質の変化，並びに化学成分を測定比較した。

PH は比色法により，酸度は N/10 NaOH の滴定により，糖は BELTRAND 氏法，揮発性塩基窒素は CORNWAY の微量拡散法により測定した。細菌数は稀釈平板培養法によったが，乳酸菌等の酸生成菌は糖汁培地上で $CaCO_3$ を溶解する Colony 数より求めた。

結果および考察

1. 硫酸 silage

精卵および肝臓を除去したスケトウダラ内臓に 50 % 硫酸を種々の量添加し，よく混合して硫酸含有量を 0.70 ～ 5.25 % となし， 8 ～ 14 ℃の室温に貯蔵し，その成分の変化を測定した結果は Table 1 のとおりである。

Table 1. Effect of sulphuric acid on the preservation of fish silage.
Material : Pollack viscera without gonad and liver.
Ensilaging temp. : 8 -14℃.

Silage no.	1			2			3			4			5		
H_2SO_4 added	0.70%			1.40%			2.10%			3.50%			5.25%		
Ensilaging days	*1 VB-N mg%	PH	*2 S-N %	VB-N mg%	PH	S-N %	VB-N mg%	PH	S-N %	VB-N mg%	PH	S-N %	VB-N mg%	PH	S-N %
3		4.1	1.47	-	3.9	1.47		3.8	1.46		3.6	1.35		3.5	1.28
5	252.03			66.27			47.43			38.41			38.28		
7			1.65			1.60			1.57			1.46			1.45
9	321.26			85.32			64.07			51.37			47.35		
10			1.79			1.75			1.74			1.53			1.58
12	353.99			95.46			72.11			50.28			—		
14			1.82			1.79			1.78			1.55			1.61
16	435.79			94.46			66.20			43.97			47.41		
17			1.83			1.82			1.81			1.56			1.64
19	508.96			105.02			72.46			44.45			49.65		
50	420.42		1.99	360.02		2.01	100.79		1.92	44.81		1.63	—		—

Analysis of the material : Moisture 80.55%, total-N 2.40%, soluble-N 1.44%, and PH 7.0.
*1 Volatile base-N
*2 Soluble-N

硫酸量 2.10 % のものは貯蔵 19 日頃までは揮発性塩基の生成がかなり抑制され， 3.50 % 以上のものは貯蔵 50 日後も腐敗の徴候は全く認められず揮発性塩基の増加量も極めて少なかった。

EDIN[2] によると硫酸 silage に必要な硫酸量は次式により計算される。

0.14×%粗蛋白＋0.9 ×%灰分＝硫酸 (50%) 量 1/原料 100kg

この式によってスケトウダラ内臓の硫酸添加量を計算すると，ほぼ 2.9 % でよいこととなる。

硫酸は安価であるが，硫酸のみで silage の品質低下を防止するには PH 2.0 附近としなければならず，これを家畜に給餌する場合には石灰を加えて PH を 4.0 以上に中和する必要があり，また容器および器具は耐酸性のものを使用しなければならない不便がある。

2. 蟻酸 silage

スケトウダラ内臓に蟻酸（80%）を1～4%添加して貯蔵し，成分の変化を比較した結果は Table 2のとおりである。

Table 2. Effect of formic acid on the preservation of fish silage.
Material : Pollack viscera without gonad and liver.
Ensilaging temp. : 8 - 14℃

Silage no.	1			2			3			4			5		
80% formic acid added	1.0%			1.5%			2.0%			3.0%			4.0%		
Ensilaging days	P_H	VB-N mg%	S-N %	P_H	VB-N mg%	S-N %	P_H	VB-N mg%	S-N %	P_H	VB-N mg%	S-N %	P_H	VB-N mg%	S-N %
3	4.1	55.36	1.574	3.9	50.70	1.707	3.8	45.86	1.706	3.6	33.92	1.653	3.5	26.46	1.649
7		60.45	1.697		54.46	1.747		53.60	1.791		39.97	1.720		34.09	1.684
10		63.61	1.717		59.40	1.832		53.91	1.842		50.96	1.740		35.58	1.738
14		66.54	1.750		63.18	1.862		59.04	—		52.51	1.750		36.20	1.795
17	4.1	70.37	1.780	3.9	63.30	1.862	3.8	60.46	1.892	3.6	53.34	1.815	3.5	40.90	1.791
48	4.8	102.17	1.849	4.0	86.39	1.925	3.8	75.16	1.918	3.6	64.06	1.894	3.5	54.56	1.815

Analysis of the material : Moisture 81.35%, total-N 2.26%, soluble-N 1.315%,
volatile base-N 30.04mg%, and P_H 6.6.

80%蟻酸を1.5%添加したものは貯蔵48日後においても異臭は認められず揮発性塩基窒素は100mg%以下であり，硫酸2.10%添加のものよりも貯蔵性が勝れている。また蟻酸使用の場合は P_H 4.0程度で silage の品質低下を防止することができるので，給飼する場合，中和する必要がない。但し蟻酸は硫酸に較べて高価であることが難点となる。

3. 硫酸—蟻酸 silage

蟻酸添加量を節約し，かつ給飼の際に中和の必要のない silage をつくる目的で硫酸量を1.05～1.75%，蟻酸量を0.38～0.5%として両者を併用し試験した結果は Table 3 および Fig. 1 のとおりである。

Table 3. Effect of sulphuric acid-formic acid on the preservation of fish silage.
Material : Pollack viscera without gonad and liver. Ensilaging temp. : 8-14℃.

Silage no.	1		2		3		4		5		6	
Acid added	H_2SO_4 1.05% HCOOH 0.38%		H_2SO_4 1.40% HCOOH 0.38%		H_2SO_4 1.75% HCOOH 0.38%		H_2SO_4 1.05% HCOOH 0.50%		H_2SO_4 1.40% HCOOH 0.50%		H_2SO_4 1.75% HCOOH 0.50%	
Ensilaging days	P_H	S-N %	P_H	S-N %	P_H	S-N %	P_H	S-N %	P_H	S-N %	P_H	S-N %
1	3.9		3.7		3.5		3.9		3.7		3.5	
3		1.58		1.59		1.56		1.59		1.56		1.57
7	4.1	1.68	3.8	1.67	3.6	1.65	4.0	1.70	3.8	1.68	3.6	1.62
10		1.72		1.72		1.66		1.72		1.69		1.67
14		1.75		1.74		1.72		1.74		1.73		1.70
17	4.1	1.73	3.8	1.74	3.6	1.73	4.0	1.77	3.8	1.75	3.6	1.73
44	4.1		3.8	1.76	3.6	1.74	4.0	1.76	3.8	1.75	3.6	

Analysis of the material : Moisture 82.89%, total-N 1.96%, soluble-N 1.39%, and
volatile base-N 75.64mg%.

原料に鮮度の低下したスケトウダラ内臓を使用したために当初より揮発性塩基窒素の量は多くなっておりこの分析データから変敗の有無を推定しにくいが，官能検査による判定では酸添加後の P_H が3.5～3.7に低下したものは44日貯蔵後においても悪臭が認められず品質低下が防止された。この場合の酸添加量は硫酸1.40%以上，蟻酸0.38%以上であった。揮発性塩基窒素の貯蔵中における増加傾向から推定すると原料の鮮度が良好であれば硫酸1.05%，蟻酸0.38%のものでもかなり腐敗を防止しうるのではないかと考えら

れる。この場合は P_H 4.1 程度であるから中和の必要なく給餌することが可能である。

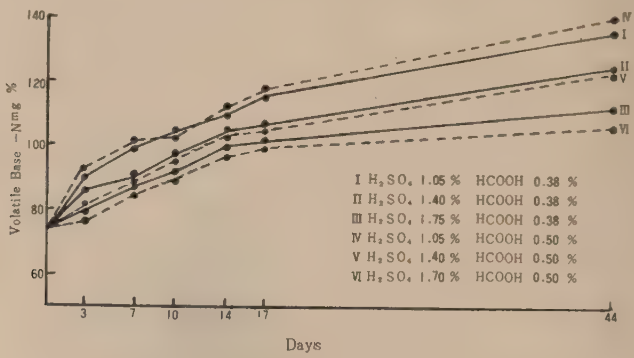


Fig. 1. Changes of volatile base-N during the ensilaging of sulphuric acid-formic acid silage.

4. 糖蜜 silage

スケトウダラ内臓に糖蜜を5～20％添加して貯蔵し，成分の変化を測定した結果は Table 4 のとおりである。

Table 4. Effect of molasses on the preservation of fish silage.
Material : Pollack viscera without gonad and liver.
Ensilaging temp. : 8 - 14 ℃.

Silage no.	1			2			3			4			5		
Molasses added	0 %			5 %			10%			15%			20%		
Ensilaging days	P_H	VB-N mg%	S-N %	P_H	VB-N mg%	S-N %	P_H	VB-N mg%	S-N %	P_H	VB-N mg%	S-N %	P_H	VB-N mg%	S-N %
1	6.6			6.4			6.4			6.3			6.3		
2	6.8			6.4			6.4			6.3			6.2		
4	7.2	213.46	1.27	5.9	199.66	1.24	5.8	156.14	1.35	5.7	103.06	1.32	5.7	63.42	1.44
8	7.4			5.4			4.8			4.7			4.7		
9	7.4			5.3			4.7			4.7			4.6		
11		498.76	1.65	5.3	305.14	1.44	4.7	239.64	1.44	4.7	188.33	1.48	4.5	141.21	1.44
14		697.68	1.70		387.35	1.51	4.7	257.53	1.49	4.7	199.70	1.57	4.5	160.07	1.56
18		849.81	1.65		483.12	1.58		276.51	1.50		210.83	1.56		164.78	

Analysis of the material : Moisture 81.82%, total-N 2.27%, soluble-N 1.37%, volatile base-N 32.1mg%, and P_H 6.6.

自然に silage 中に混入した細菌や酵母類により糖の醗酵が行われ有機酸が生成されるので，貯蔵中ある程度 P_H が低下し，揮発性塩基窒素の生成も若干抑制されるが，糖蜜添加量が20％の場合でも貯蔵11日後には悪臭を発し腐敗した。糖蜜のみの添加では貯蔵性のある silage を製造することは困難であったが，EDIN（未発表）[2] によると，魚100部に対し糖蜜20部を加え数日間自然醗酵を行わしめると，長期間貯蔵できる silage を製造しうると述べていることから考えると，原料が新鮮で細菌による汚染程度の少いものであれば糖蜜 silage が可能となろう。

5. 硫酸－糖蜜 silage

イカナゴの磨砕物に硫酸を2.8％添加し P_H を3.9に下げ，これに糖蜜を5～20％添加して silage を製造した結果は Table 5 および Fig. 2～3のとおりである。

糖蜜を添加しない対照区が貯蔵15日に腐敗したのに対し，糖蜜を5～10％添加したものでは貯蔵27日後

Table 5. Effect of sulphuric acid-molasses on the preservation of fish silage.
Material : Ikanago (Ammodytes personatus Girard). Ensilaging temp. : 8-14℃.

Silage no.	1			2			3			4			5		
	H_2SO_4 2.8%＋ Molasses 0			H_2SO_4 2.8%＋ Molasses 5%			H_2SO_4 2.8%＋ Molasses 10%			H_2SO_4 2.8%＋ Molasses 15%			H_2SO_4 2.8%＋ Molasses 20%		
Ensilaging days	T-N %	S-N %	P_H	T-N %	S-N %	P_H	T-N %	S-N %	P_H	T-N %	S-N %	P_H	T-N %	S-N %	P_H
1	2.31	1.01	3.9	2.38	1.01	3.9	2.41	0.99	4.1	2.43	—	4.1	2.50	0.97	4.1
5			4.3			4.3			4.3			4.3			4.3
7	2.34	1.50	4.3	2.37	1.46	4.1	2.38	1.45	4.1	2.46	1.39	4.2	2.50	1.35	4.2
12			4.7			4.1			4.1			4.2			4.2
15	2.33	1.70	4.7	2.37	1.66	4.1	2.40	1.65	4.1	2.47	1.56	4.3	2.56	1.51	4.3
17			4.8			4.2			4.2			4.3			4.3
27	2.31	1.77	4.9	2.37	1.79	4.2	2.42	1.77	4.2	2.54	1.64	4.4	2.55	1.64	4.4

Analysis of the material : Moisture 66.73%, total-N 2.87%, soluble-N 0.99%, volatile base-N 16.59mg%, and P_H 6.1.

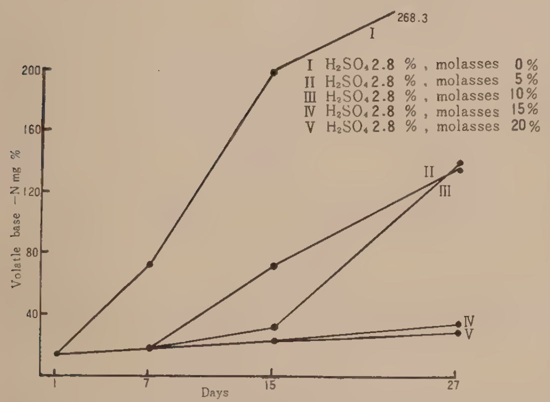


Fig. 2. Changes of volatile base-N during the ensilaging of sulphuric acid-molasses silage.

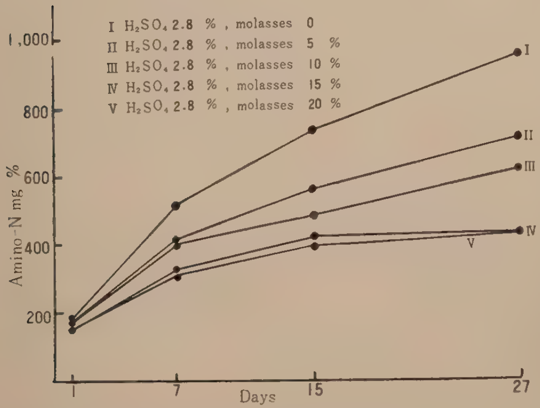


Fig. 3. Changes of amino-N during the ensilaging of sulphuric acid-molasses silage.

に微異臭が認められ品質が低下し始め，糖蜜15%以上の添加区は貯蔵27日後においてもアミノ酸は増加したが，揮発性塩基窒素の増加量は極めて少く長期貯蔵にたえるものであった。これは硫酸の添加により P_H が低下し一般の腐敗細菌の発育が抑制され，糖蜜の醱酵により有機酸が生成されたことによるものであろう。

6. 醱酵 silage

前述の試験結果から明らかなように，細切した魚に糖蜜を加え混合しただけでもある程度の醱酵が行われ，有機酸の生成により P_H が低下し若干貯蔵性は増すが，この場合は原料の細菌汚染の度合により一定の品質のものが出来難く，またその醱酵も不完全なものである。CARL[6] は Lactobacillus plantarum の培養液を starter として，これに加えることにより，醱酵中，黴，酵母，腐敗細菌等による汚染の危険がなく良好な醱酵 silage を製造することについて特許をとった。筆者等は L. delbruckii を麹エキス中で37℃ 24時間接種培養した液を starter とし細切したイカナゴと糖蜜の混合物にこれを添加して25℃に貯蔵醱酵せしめた。対照として糖蜜のみを混合したものおよび硫酸のみを添加したものについても同時に試験した。その結果は Table 6 および Fig. 4～5のとおりである。

Table 6. Comparison of the keeping quality between sulphuric acid silage and two (A and B) fermented silages.
A : With molasses and sterilized medium.
B : With molasses and L. delbruckii medium, which was inoculated to koji-juice and incubated for 24 hrs. at 37°C.
Ensilaging temp. : 25°C.

	Fermented silages								Sulphuric acid silage			
	A				B							
	Ikanago+Molasses 15%+ Sterilized medium 20%				Ikanago+Molasses 15%+ L. delbruckii medium 20%				Ikanago+ Sulphuric acid 3.5%			
Ensilaging period	Acidity	P_H	Glucose %	S-N %	Acidity	P_H	Glucose %	S-N %	Acidity	P_H	Glucose %	S-N %
6hrs.	0.80	5.7	—	0.90	0.80	6.0	—	0.89	5.56	2.0	—	0.90
18	0.80	5.3	6.44	0.97	1.14	5.4	5.89	0.94	5.60	2.0	—	1.04
30	1.38	4.7	5.45	1.08	1.98	4.5	4.94	1.08	5.72	2.1	—	1.11
44	2.28	4.6	5.26	1.24	3.00	4.4	4.42	1.28	5.88	2.1		1.16
68	2.98	4.5	3.28	1.46	4.00	4.3	3.25	1.43	5.86	2.1	—	1.21
92	3.40	4.5	1.85	1.56	4.50	4.3	3.02	1.56	6.00	2.2	—	1.25
140	3.86	4.4	0.00	1.70	5.40	4.1	1.66	1.65	6:00	2.2	—	1.26
188	3.94	4.4	—	1.73	5.80	4.1	0	1.74	6.00	2.2	—	1.26
236	4.02	4.4	—	1.81	6.20	4.0	—	1.76	6.16	2.2	—	1.30
13days	4.06	4.4	—	1.87	6.04	4.0	—	1.84	6.00	2.2	—	1.30
16	3.86	4.4	—	1.91	6.08	4.0	—	1.84	6.04	2.2	—	1.32
20	3.32	4.4	—	1.92	6.20	4.0	—	1.88	6.10	2.2	—	1.32
28	3.60	4.4	—	2.01	6.00	4.0	—	1.91	6.20	2.2	—	1.37
39	3.10	4.9	—	—	5.64	4.1	—	—	6.00	2.3	—	
50	2.58	5.1	—	—	5.60	4.1	—	—	5.96	2.3	—	
66	2.78	5.2	—	—	5.70	4.1	—	—	6.00	2.3	—	
79	—	5.4	—	—	—	4.1	—	—	—	2.3	—	

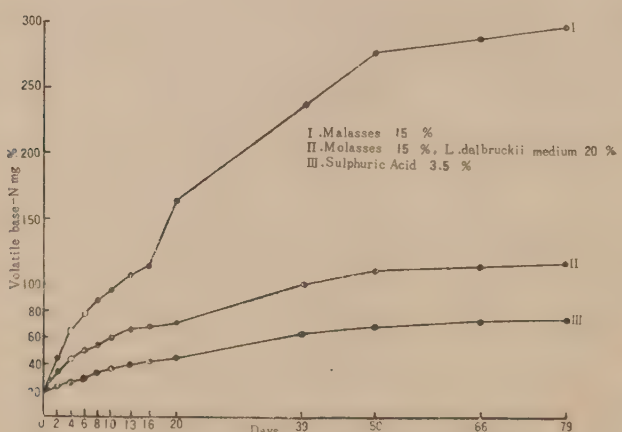


Fig. 4. Changes of volatle base-N during the ensilaging of various fish silages.

乳酸菌を添加した silage は貯蔵 188 時間で糖分を消費し尽し，P_H は 4.1 に下り以後暫く成分の変化が少く安定であるが貯蔵 39 日目頃より揮発性塩基の増加が目立ってきた。糖蜜のみを添加したものは貯蔵中揮発性塩基が次第に増加し 13 日後には 100 mg %を超え異臭が感じられ，P_H は 4.4 まで下った後は次第に上昇し始め貯蔵39日以降には完全腐敗の状態となった。

乳酸菌による醱酵 silage と硫酸 silage を比較すると前者は醱酵により魚臭が消失して芳香を発し，水溶性蛋白，並びにアミノ酸の含有量が多く，使用前に中和の必要もないので飼料向けとして好適なものと考えられる。

7. 醱酵温度について

L. delbruckii 培養液を starter として添加した場合に最初から 33 時間を 37°Cに保管し，次いで 25°C[illegible] [illegible]，最初に 15 時間を 37°Cに保管し次いで 25°Cに[illegible]，および当初から 25°Cで[illegible]

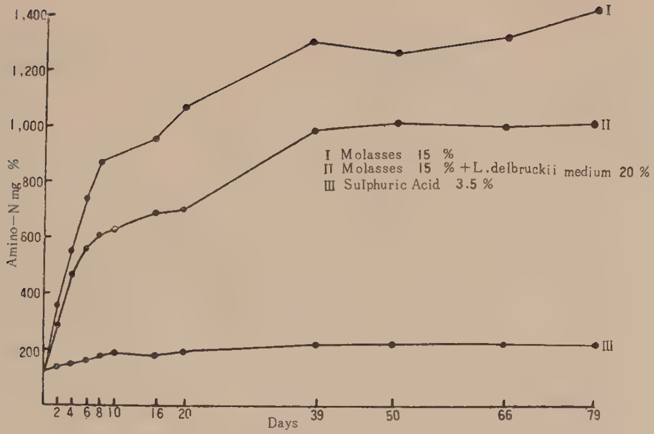


Fig. 5. Change of amino-N during the ensilaging of various fish silages.

について比較した結果は Table 7 および Fig. 6～7のとおりである。

Table 7. Influence of ensilaging temperature on the keeping quality of fish silage.
Material : Ikanago. Molasses : 10% L. delbruckii medium (at 37°C, for 24 hrs.) : 20%.

Ensilaging temp.	For 33 hrs. at 37°C, then at 25°C.			For 15 hrs. at 37°C, then at 25°C.			At 25°C.		
Ensilaging period	Acidity	P_H	Soluble-N %	Acidity	P_H	Soluble-N %	Acidity	P_H	Soluble-N %
0 hrs.	0.60	6.3	0.88	0.60	6.3	0.88	0.60	6.3	0.88
3	0.64	5.9	—	0.78	5.9	—	0.78	6.2	—
9	1.80	5.2	1.18	1.74	5.8	1.18	0.64	6.0	0.90
15	3.30	4.5	—	3.30	4.6	—	1.20	5.4	—
21	3.64	4.4	1.36	3.50	4.5	1.45	1.44	5.2	1.14
27	4.20	4.4	—	3.80	4.5	—	2.10	5.0	—
33	4.50	4.3	1.62	3.92	4.4	1.53	2.46	4.7	1.46
2 days	4.66	4.3	—	4.40	4.3	—	3.56	4.5	—
3	4.74	4.2	2.18	4.70	4.2	2.09	4.66	4.4	1.47
4	4.60	4.2	—	4.76	4.2	—	4.72	4.2	—
6	4.74	4.2	2.21	4.74	4.2	1.91	4.92	4.2	2.16
10	4.78	4.2	—	4.80	4.2	—	4.80	4.2	—
23	5.20	4.2	—	5.26	4.2	—	5.26	4.2	—
39	4.92	4.2	—	5.40	4.2	—	5.40	4.2	—

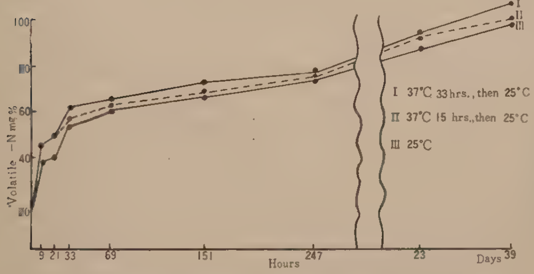


Fig. 6. Relation between volatile base-N and initial ensilaging temperature of fermented silage.

L. delbruckii の生酸至適温度は 42～45°C[8] と比較的高いので，当初より25°Cで保管したものは P_H 4.5 に下るのに 48 時間を要しているのに対し，37°Cで始めたものは 15～21 時間で P_H 4.5～4.6 に下っている。しかし 39 日後においては 3 者ともその成分が大差なくなった。

Kreuzer[3] によると Bacillus botulinus は約 P_H 4.5 まで毒素を生成することができ，Bac. subtilus も P_H 4.5 までよく生育しうるので，醗酵 silage をつ

くる場合にはできるだけ速に P_H 4.5 に下るようにしなければならないと述べている。かような点から考えると L. delbruckii の場合には37°Cで醗酵せしめる方が好ましいわけであるが，実際の大量生産の場合にこのような高温を保持することは経費が嵩み，また当初より25°Cで醗酵せしめた場合でも外観上からは37°Cの場合と大差なく異常が認められなかったので25°Cでも差支えがないように思われる。但し予備試験の結果では20°C以下で行った場合には P_H の低下が極めて緩慢であり，醗酵中異臭を発し腐敗した。

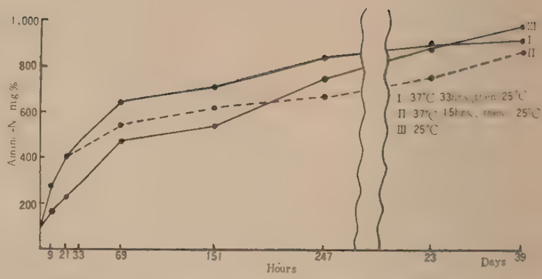


Fig. 7. Relation between amino-N and initial ensilaging temperature of fermented silage.

8. 好気的および嫌気的醗酵の比較

イカナゴ磨砕物に糖蜜20％， L. delbruckii 培養液20％を添加，よく混合し，一方は容器を開放の状態，他方は窒素ガスを充満したデシケータ内で醗酵せしめた場合の成分の変化を比較すると Table 8 のとおりである。

Table 8. Comparison between aerobic and anaerobic ensilaging.
Material : Ikanago. Molasses : 20%, L. delbruckii medium : 20%.
Ensilaging. temp. : 25°C.

Ensilaging days	Aerobic ensilaging				Anaerobic ensilaging			
	Acidity	P_H	Amino-N mg%	VB-N mg%	Acidity	P_H	Amino-N mg%	VB-N mg%
0	0.60	6.1	125	22.00	0.60	6.1	125	22.00
1	1.96	4.9	244	36.22	2.06	4.9	280	39.11
5	4.44	4.4	465	50.07	4.60	4.4	487	52.82
12	5.14	4.1	588	52.38	5.36	4.1	655	58.17
20	5.20	4.0	728	63.60	5.36	4.0	765	72.28
27	5.20	4.0	1100	67.98	5.30	4.0	1176	74.16

一般に乳酸菌は嫌気的条件では発育良好であるが，この場合にはほとんど差がみられなかった。これは好気的条件の場合でも醗酵の当初 CO_2 ガスを生成し，内部の酸素が減少し乳酸菌の発育に好適となったのではないかと思われる。

9. 乳酸菌の醗酵に対する糖蜜濃度の影響

L. delbruckii 培養液を starter として添加した場合における糖蜜濃度の影響を比較すると Table 9 および Fig. 8～9のとおりである。

Table 9. Effect of molasses on the quality of fermented silage.
Material : Saury (Cololabis saira). L. delbrukii medium : 10%. Ensilaging temp. : 25°C.

Molasses added	5%		10%		15%		20%		25%	
Ensilaging days	Acidity	P_H	Acidity	P_H	Acidity	P_H	Acidity	P_H	Acidity	P_H
1	2.00	5.2	2.08	5.1	2.10	5.1	1.86	5.2	1.76	5.2
2	2.00	5.5	3.22	4.7	3.56	4.6	3.14	4.6	2.90	4.7
3	2.12	5.6	3.40	4.7	3.94	4.6	4.00	4.6	3.84	4.6
4	1.96	5.8	3.36	4.7	4.34	4.6	4.26	4.6	4.14	4.6
5	2.00	5.8	3.40	4.7	4.54	4.6	4.60	4.6	4.40	4.6
6	1.80	5.8	3.28	4.7	4.34	4.5	4.78	4.5	4.76	4.5
8	—	—	3.58	4.7	4.36	4.5	4.74	4.5	5.02	4.4
12			3.80	4.6	4.24	4.4			5.60	4.4
16	—	—	4.40	4.5	4.46	4.4	—	—	5.60	4.4

Note : Control (molasses no added) was spoiled after 24 hrs. storage (acidity, 1.16, P_H, 5.8, amino-N 504mg%, volatile base-N 102.18mg%).

糖蜜添加量の増大とともに P_H の低下が早く揮発性塩基窒素の生成量は少く乳酸醱酵が良好となっている。糖蜜量が5％以下では1～2日後に揮発性塩基窒素は 100 mg％を越え悪臭を発生し，P_Hも低下せず変敗した。糖蜜添加量は少くとも10％以上が必要と思われる。

10．乳酸醱酵中に於ける菌数の変化

L. delbruckii または L. plantarum 培養液を starter として添加した場合，並びに starter を添加しない対照について醱酵 silage 製造過程中に一般細菌および酸生成菌の菌数が如何に変化するかを比較した結果は Table 10 のとおりである。

普通寒天培地上の菌数（一般細菌）は対照区が貯蔵1～9日まではかなり多く 11 日以降 1.3×10^4 に減少しているのに対し，L. delbruckii および L. plantarum 区は3日後にはほぼ対照区の 11 日以降の菌数に等しい量に減少し，反面，麴エキス培地上で $CaCO_3$ を溶解する菌数（酸生成菌）は，醱酵開始後3～9日目までは乳酸菌添加区に多く対照区に少い。22～43 日後においては一般細菌，並びに酸生成菌の数は対照区と乳酸菌添加区との間に大差がみられなかった。これより starter として添加された乳酸菌は， silage 開始

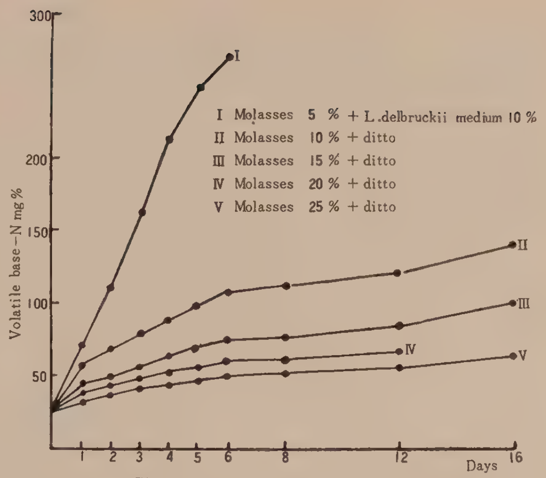


Fig. 8. Changes of volatile base-N during the ensilaging of femented silage.

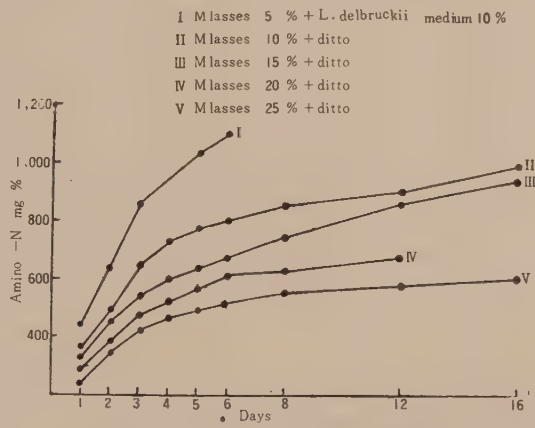


Fig. 9. Changes of amino-N during the ensilaging of fermented silage.

Table 10. Variation of bacterial counts in fish silages, added L. delbruckii or L. plantarum medium.
Material : Saury. Molasses : 15%. Medium : 20%. Ensilaging temp. : 25℃.

Ensilaging days	Control		L. delbruckii		L. plantarum	
	Agar (1)	Agar (2)	Agar (1)	Agar (2)	Agar (1)	Agar (2)
1	1×10^6	1×10^6	1.3×10^5	2.9×10^9	1.8×10^5	1.8×10^9
3	6.8×10^8	8.9×10^8	5.0×10^4	5.0×10^9	4.3×10^4	2.1×10^9
9	1×10^7	3.1×10^8	1×10^4	2.6×10^9	1×10^5	1.7×10^8
11	1.3×10^4	—	1.4×10^4	—	1.6×10^4	—
22	1.9×10^4	8.8×10^7	2.4×10^4	2.9×10^8	1.3×10^4	9.2×10^7
35	1.2×10^4	7.4×10^6	1.1×10^4	6.1×10^6	1.7×10^4	1×10^5
43	3.2×10^5	7.0×10^6	7.6×10^4	1.2×10^5	2.8×10^4	1.5×10^6

Initial bacterial counts : Material (saury) 1×10^3,
L. delbruckii medium 4.4×10^8,
L. plantarum medium 1.5×10^8, per g, respectively

Agar (1) : 1% pepton + 0.5% NaCl + 0.5% meat extract + 0.2% agar.

Agar (2) : Koji juice + 2% $CaCO_3$ + 0.2% agar.

の当初において活発な増殖を行い有機酸の生成により一般細菌の発育を抑制して silage の悪変を防止することがわかる。しかし醗酵日数を経過するに従い，その繁殖能は弱まり乳酸菌の数は次第に減少するので，この時期には silage を低温に貯蔵するか，または麩等の吸着剤を加えて乾燥しなければ silage の品質を保持することができ難くなる。

11. starter の添加量について

L. delbruckii および L. plantarum 培養液を 2 ～15%添加し醗酵せしめた場合における silage の品質を比較すると Table 11 のとおりである。

Table 11. Influence of amounts of media on the quality of fermented silage.
Material : Saury. Molasses : 10%. Ensilaging temp. : 25℃.

Ensilaging days		Control	L. delbruckii				L. plantarum			
			2 %	5 %	10%	15%	2 %	5 %	10%	15%
1	PH	6.0	5.9	5.8	5.6	5.6	5.9	5.8	5.7	5.6
	Acidity	1.00	1.20	1.30	1.54	1.58	1.20	1.30	1.42	1.48
	Amino-N	176.4	190.4	170.8	173.6	193.6	187.6	193.2	179.2	193.2
	VB-N	20.71	21.22	17.94	21.01	20.91	22.35	24.91	26.45	26.45
3	PH	5.1	4.7	4.75	4.75	4.75	4.75	4.75	4.75	4.75
	Acidity	2.94	3.42	3.56	3.50	3.64	3.60	3.60	3.52	3.58
	Amino-N	417.2	280.0	260.4	252.0	232.4	280.0	232.4	238.0	232.4
	VB-N	68.06	30.96	29.93	28.19	26.86	36.39	36.59	33.93	33.62
6	PH	4.8	4.7	4.6	4.5	4.5	4.75	4.75	4.75	4.75
	Acidity	3.28	4.14	4.60	4.40	4.28	4.20	4.00	3.92	3.90
	Amino-N	504.0	322.0	324.8	330.4	308.0	327.6	327.6	369.6	—
	VB-N	94.30	51.45	37.11	41.41	39.36	45.72	46.54	44.69	51.01
10	PH	4.9	4.5	4.35	4.35	4.4	4.6	4.6	4.6	4.6
	Acidity	3.24	4.00	5.36	5.08	5.20	4.50	4.40	3.92	3.74
	Amino-N	588.0	482.0	392.5	359.0	—	462.5	434.0	397.5	498.0
	VB-N	143.5	98.5	52.4	53.8	59.8	60.0	58.3	72.0	98.5
16	PH	5.4	5.6	4.3	4.5	4.5	4.6	4.6	4.65	4.65
	Acidity	2.46	2.10	5.60	5.20	5.16	4.66	4.46	4.40	3.12
	Amino-N	814.0	700.0	472.2	533.0	496.0	522.0	552.0	552.0	603.0
	VB-N	—	—	68.3	94.8	80.2	72.7	77.3	97.7	—

対照区が silage 開始 10 日後に揮発性塩基窒素が急増して腐敗したのに対し，starter 添加区は L. delbruckii 2 %添加区を除きいずれも 10 日目まで成分に大差がみられなく品質良好であつた。

KREUZER[3] によると乳酸菌の当初添加量が多い場合ほど PH の低下が早く品質良好な silage をつくることができ，醗酵温度が乳酸菌の至適温度に近ずくに従い少量の接種量でも目的を果しうると述べて居る。この場合の醗酵温度は 25 ℃で L. plantarum の至適温度は 30 ℃[8] であるから，L. plantarum の場合には少量（2 %）の添加量でも目的を果し得たが， L. delbruckii の至適温度は 42 ～ 45 ℃と高いので 5 %以上の添加量を必要としたものと考えられる。

12. silage の醗酵におよぼす原料鮮度の影響

鮮度良好な冷凍サンマの解凍直後のもの，解凍後 25 ℃ 14 時間放置し初期腐敗の状態にあるもの，および解凍後 37 ℃ 4 時間，次に 25 ℃ 18 時間放置し，かなり腐敗臭のあるものの 3 種を原料として，これに糖蜜 15 %， L. delbruckii 培養液 10 %を加え 25 ℃にて醗酵せしめた場合の菌数の変化を比較すると Table 12 のとおりであり，解凍直後の鮮度良好な原料の場合には酸生成菌数は，silage 開始後 1 ～ 9 日目まで 2.4 ～ 3.0 × 10^9 と多く，解凍後 25 ～ 37 ℃に放置し鮮度低下せしめた原料の場合にはこれより少く，一方，一般細菌数は silage 開始後 1 ～ 9 日目まで不鮮原料区に多く，その発育により silage が腐敗し易い。

この場合における silage の成分の変化を比較すると Table 13 のとおりであり，鮮度の良好な場合ほど酸度が増加し PH の低下が早く，また揮発性塩基窒素の増加は少く品質も良好である。 Fish silage の真

Table 12. Influence of freshness of materials on the variation of bacterial counts in fermented silage.
Material : Saury. Molasses : 15%. L. delbruckii medium : 10%. Ensilaging temp. : 25°C.

Material / Ensilaging days	Fresh		Slightly putrid odor		Putrid odor	
	Agar (1)	Agar (2)	Agar (1)	Agar (2)	Agar (1)	Agar (2)
0	2.2×10^5	—	7.4×10^6	—	3.4×10^8	—
1	2.8×10^5	2.4×10^9	1.9×10^9	1.9×10^8	1.3×10^9	4.9×10^8
3	9.7×10^5	2.3×10^9	2.8×10^6	2.9×10^9	2.8×10^7	8.2×10^8
9	7.5×10^4	3.0×10^9	3.1×10^9	4.0×10^4	2.2×10^9	5.0×10^6
24	5.5×10^3	4.7×10^8	1.5×10^4	9.5×10^7	1×10^2	7.9×10^8
32	2.1×10^8	7.1×10^7	1.3×10^4	1×10^6	2.4×10^4	2.9×10^7

Agar (1) : 1%pepton + 0.5% NaCl + 0.5% meat extract + 0.2% agar
Agar (2) : Koji juice + 2% $CaCO_3$ + 0.2% agar.

Table 13. Influence of freshness of materials on the quality of fermented silage.
Material : Saury. Molasses : 15%. L. delbruckii medium : 10%.
Ensilaging temp. : 25°C.

Material / Ensilaging days	Fresh				Slightly putrid odor				Putrid odor			
	PH	Acidity	Amino-N mg%	VB-N mg%	PH	Acidity	Amino-N mg%	VB-N mg%	PH	Acidity	Amino-N mg%	VB-N mg%
0	6.2	—	85	13.53	—	—	210	34.03	—	—	358	78.72
1	5.0	1.66	168	17.84	5.2	1.96	300	43.83	5.2	2.22	454	103.32
2	4.7	2.94	196	25.11	4.7	2.98	364	59.86	4.8	2.86	610	143.09
4	4.6	4.14	258	30.95	4.6	4.00	392	68.37	4.7	3.66	644	145.7
6	4.5	4.50	280	39.36	4.6	4.40	459	72.78	4.7	4.08	722	158.1
9	4.5	4.96	398	47.15	4.5	5.00	526	83.64	4.6	4.66	784	186.0
13	4.5	5.14	412	49.00	4.5	5.46	504	84.87	4.6	5.20	812	189.0
18	4.5	5.46	445	56.58	4.4	6.00	605	82.82	4.6	5.66	840	184.0
23	4.5	5.40	476	67.50	4.4	5.90	633	94.20	4.6	5.20	883	214.5

料として鮮度良好なものを入手することは実際にはなかなか困難であるにしても，細菌による汚染度の高い腐敗臭のある原料からは品質良好な silage をつくることはできないので，原料の取扱いに当っては，この点十分注意することが肝要である。

要　　約

1. スケトウダラ内臓，サンマ，イカナゴ等を原料とし，これに硫酸，蟻酸，糖蜜を単独に，または併用して種々の量添加し， silage を製造した場合における PH の変化，蛋白の変移，揮発性塩基について検討した。その結果は硫酸と蟻酸の併用，または硫酸と糖蜜の併用 silage が品質や保蔵性の点で勝れているようにみえた。

2. Lactobacillus delbruckii あるいは L. plantarum の培養液を starter として添加した醗酵 silage について培養液，および糖蜜の添加量，原料鮮度，醗酵温度の影響を同様に検討した。有害菌による汚染を防止する上に silage はできる限り短時日内に PH 4.5 に下げなければならないが，それには醗酵温度は 25°C 以上であれば大差がなく，糖蜜量は最低 10 %以上必要であり，原料は細菌による汚染度の少い新鮮なものほど好ましかった。25°Cの醗酵温度では L. delbruckii の場合は培養液の添加量の多いほど PH の低下が早かったが L. plantarum の場合は培養液の液加量の影響が判然としなかった。なお silage の品質を比較すると L. delbruckii の方が L. plantarum より良好であった。

文　　献

1) 清水，日引，中越 (1955)： 日水誌，21(2)，130.

2) H. Peterson (1953) : Fao Fish. Bulletin, 6 (1～2).
3) H. C. Freeman, P.L. Hoogland (1957) : Fish. Res. Bd. of Canada., (65) 24.
4) エリ. エリ. ラグノフ外3名 (1958) : ソビエト漁業研究報告集4集, 210.
北水研ソビエト漁業研究会訳.
5) R. Kreuzer (1952/53) : Arch. f. Fischereiwissensch. 4, 57.
〃 (1954) : 〃 5 (½), 47.
6) L.K. Carl (1950) : Patent Nr 2330, C. 4602 IV b/53g.
7) 多田, 中山 (1955) : 特許番号 219077, 特許公報, 7175.
8) 宮地憲二著 (1948) : 応用黴菌学, P. 227—8, 岩波書店.

魚肉の特性に関する研究—I
蒲鉾形成能について

宇野　勉・中村全良

Studies on the Characteristic Qualities of Fish Meat – I
On "Kamaboko" – (steamed fish cake) forming ability

By

Tsutomu UNO and Masayoshi NAKAMURA

The authors have studies on "Kamaboko"-forming abilities of Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) and "Nagazuka" (*Stichaeus grigorijewi*).
Their observations can be summarized as follows :

1. The higher maintained temperature to set fish meat paste was, the sooner it completed setting. But when the paste was maintained at 37°C, it set with brittle structure due to the heat denaturation of the protein in the fish meat. At 2°C, because setting phenomena had become too slow, the paste was spoiled. Therefore, in prcatice, it is to be desired that maintained temperature is about 20°C.
2. When fish meat paste attained to the maximum setting strength, its jelly strength as formed by steaming also attained nearly to the maximum value. But the jelly strength increased rapidly in the beginning of the setting treatment and then slowly. Therefore, from the practical point of view there is no necessity for allowing the fish meat paste to maintain until setting strength reaches to the maximum value.
3. In the case of Alaska pollack the setting power of the meat decreases extremely with the fall of freshness ; therefore, fresh fish materials must be employed for "Kamaboko" manufacture.
4. In the case of "Nagazuka", on the contrary, whether there is fall of its freshness or no, the setting power and jelly strength were almost the same. Although its setting was not enough, the "Kamaboko" made of it by steaming possessed strong jelly strength.
5. Alaska pollack meat was caused by freezing storage almost to lose its "Kamaboko"-forming ability, but "Nagazuka" meat kept its ability.
6. Regarding Alaska pollack meat, water-bleached meat possessed stronger jelly forming ability than non-bleached meat. Moreover, the difference between the two categories increased in accordance with the fall of freshness.
7. Phosphates exerted effect on the improvement of jelly strength of "Kamaboko" which was made of fresh fish material, but after decreasing of the freshness they had little effect. Owing to the water-hold capacity of fish meat having been increased by the addition of phosphates, the quantity of free water from the meat after steaming became smaller.
8. In the course of freezing storage, the actomyosin-fraction nitrogen of Alaska pollack meat proteins almost disappeared, but that of "Nagazuka" meat proteins did not much decrease. Therefore, it is considered that actomyosin fraction has relation to "Kamaboko"-forming ability of fish meat. But the content of this fractoin nitrogen does not much differ between Alaska pollack and "Nagazuka" while these fish materials keep fresh ; further the content with decreasing of freshness is almost un-

changed. Therefore, it is supposed that "Kamaboko"-forming ability is influenced by the quality of actomyosin fraction.

緒　　　言

魚介肉に食塩を加えて擂潰し放置すれば弾性のある凝膠を形成する。これを坐りと称している。この坐った擂身を加熱すれば足（弾力）のある蒲鉾が得られる。蒲鉾は色沢，香味と共に足の強さが，その品質を決定する重要な要素となっている。

一般に原料魚肉の鮮度が低下すると蒲鉾の足が弱くなり，また，魚種によって，その程度に差があるが，特に北海道周辺において多獲されるスケトウダラ (*Theragra chalcogramma*) は鮮度低下に伴い足の低下が早いといわれ，上質の蒲鉾には利用されていなかった。最近，焼竹輪の売行不振によりスケトウダラの加工法の転換が問題となり，一方，新潟県等においてはこれを原料として品質良好な蒲鉾を製造するにおよんで蒲鉾原料としてのスケトウダラに対する関心が高まってきた。しかしスケトウダラが鮮度低下により，どの程度坐り，および足の強さに影響をうけるか，また，擂身の放置温度，並びに時間と坐り，および足の強さの関係，肉類の保水性や膨潤性を高める燐酸塩類のこれ等に対する効果等，未解決の問題が多い。よって筆者等はスケトウダラ (*Theragra chalcogramma*) についてこれ等の関係を検討した。また，エソ，グチ等と並び北海道にも漁獲される唯一の強足原料といわれるナガズカ (*Stichaeus grigorijewi*) についても，これ等の関係を試験し，さらにアクトミオシン区蛋白との関係について比較検討を行った。

実　　験　　法

1.　擂身の製造と坐り，および足の強さの測定

原料魚を3枚に身卸し水洗後，スタンプ式採肉機にかけ精肉を採取し，これに約5倍量の水を加えて攪拌後静置し，上澄液を流す操作を3回繰返して水晒を行い，次に布袋に入れ圧搾脱水し，チョッパーにかけ肉挽きを行い，擂潰機に入れ空摺10分間後，食塩2.5%を加え30分間擂潰して擂身をつくった。食塩量を2.5%としたのは清水等[1]の調査によれば市販蒲鉾の平均塩分量が2.5%となっているからであり，条件を簡単にするため調味料や澱粉等食塩以外のものを添加しなかった。この擂身を径5cm，高さ2cmの円筒に入れ一定温度に放置して坐らせ，松本等[2]の方法に準拠し，上部より支点を落し尖端に直径6mmの球をつけたプランジャーが擂身の表面を破り沈下する時の全荷重（g）をもって坐りの強さとし，同様にして100℃20分間蒸煮後1夜放冷したものにつき破れの荷重を測定し蒲鉾の足の強さとした。測定は5回繰返し，その平均値をとった。

松本等は蒲鉾の足を凹みの強度と破れの強度の2種に分けて測定し，前者は奥歯で噛みしめるときの弾力，後者は前歯で噛み切るときの歯切れの抵抗に相当するとしているが，筆者等の経験によると凹みの強度は，破れの強度よりも擂身中の水分含有量に大きく左右されやすいこと，坐り，および足の強さによる測定値の差は破れの強度の方が大きく現れるので比較が容易であること，両測定値を記載すると図表が複雑になり過ぎることなどの理由により今回は便宜上破れの強度によって，坐りおよび足の強さを表し凹みの強度の測定値を省略した。

2.　アクトミオシン区蛋白の定量

魚肉の蒲鉾形成能にアクトミオシン区蛋白が重要な関係を有するものと考え DYER 等[3]の方法にしたがい定量した。すなわち精肉に0℃の5% NaCl（0.02M$NaCO_3$を加え PH 7.0～7.5にしたもの）20倍量を加えブレンダーにて3,000 r.p.m. 10分間ホモゲナイズした後2～3,000 r.p.m. にて20～30分間遠心分離して上澄液をとり，この上澄液に0℃の蒸溜水を加え10倍に稀釈し24時間2℃に放置後，析出したミオシンゲルを30分間3,000 r.p.m. にて遠心分離し上澄液を除き，沈澱を0.1N. NaOHに溶解して一定容とし N量をミクロケールダール法により測定しアクトミオシン－Nを算出し，別に魚肉中の全蛋白－Nおよび5%NaCl可溶性蛋白－Nを測定し，これらに対する比率を以て比較した。

結果および考察

A. スケトウダラ

(1) 摺身の放置温度と坐り，および蒸煮後の足の強さ

漁獲後0～2℃の気温にて約20時間を経過した新鮮な試料より製した摺身を2～37℃に放置し，坐り，および蒸煮後の足の強さを比較した結果は第1図(a)および(b)に示す通りである。魚肉の水晒し後における

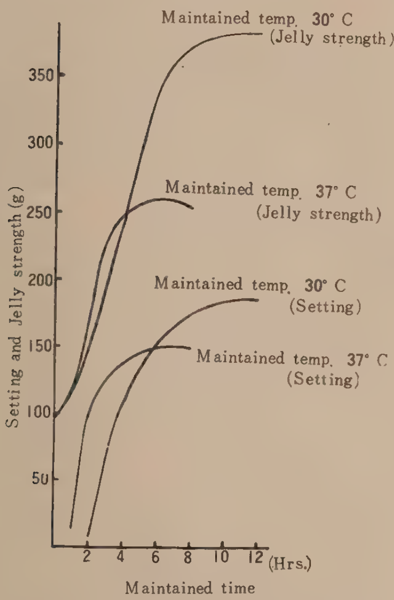


Fig. 1. (a) Relation of setting and jelly strength with maintained temperature of fish meat pastes.
Material : Alaska pollack meat.
Moisture : 90.9%

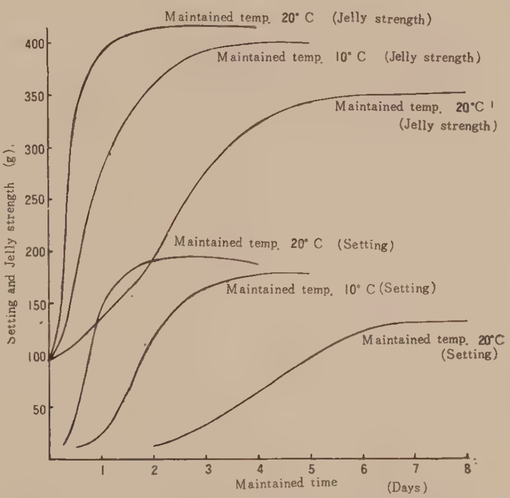


Fig. 1. (b) Relation of setting and jelly strength with maintained temperature of fish meat pastes.
Material : Alaska pollack meat
Moisture : 90.9%

圧搾脱水を軽度に行ったため魚肉中の水分が90.9％と非常に多く，したがって，ここに示した値は市販蒲鉾の場合に比較して，かなり劣るが，傾向を見るには差し支えないと考える。官能検査により坐りの状態を判定すると，坐りの強さが50g以下の場合には粘着力が強く摺身は未だ坐らず，50～100gのものは不鮮明な坐り，100g以上の場合には摺身は粘着力を失って弾性に富む凝膠となり，坐りの状態に達した。この状態に達する時間を比較すると，放置温度が高いほど早く37℃では2時間，30℃ 4時間，20℃ 12時間，10℃ 2日，2℃ 5日であった。坐りの強さが最高に達した時の値を比較すると20℃の場合が最も大で，次は30，10，37，2℃の順であった。これらの結果から摺身の放置温度は10～30℃が適当であり37℃のごとき高温では蛋白の熱凝固が起り，また，2℃のごとき低温では坐りに長時間を要し，この間に微生物等により蛋白が分解され，いずれも坐りの強さが劣る。

これらの摺身の蒸煮後における足の強さを比較すると20℃の場合が最大で，次は10，30，2，37℃の順であった。また，坐りの強さの最高の時期と蒸煮後の足の強さの最大の時期とは，ほぼ一致するが，足の強さは坐りの強さより最初急激に増加し，ある程度の値に達すると以後緩慢な曲線で最高値に近ずいて行く傾向が見られる。このことより考えると，実際に蒲鉾をつくる場合には必ずしも坐りの強さが最大に達する迄摺身を放置する必要はなく，ある程度の坐りの強さに達した時に蒸煮しても，かなり良好な足をもつ製品を

つくりうる。

（2） **鮮度低下，並びに冷凍の坐りにおよぼす影響**

鮮度良好なスケトウタラ（漁獲後0～2℃で20時間経過）より精肉を採取し，これを2分して一部は2℃の恒温器内に貯蔵し，他は－10℃に冷凍貯蔵し，これらより適宜試料を採り常法により擂身をつくり10℃に放置して坐りの強さを比較した結果は第2図に示す通りである。今回は圧搾脱水を十分に行ったので魚肉中の水分は83.4％と前回の場合より低く，したがって新鮮（当日）原料の坐りの強さは最高565 gと非常に高く現れた。また，官能検査により擂身が坐りの状態に達した時の強度は約200 gで前日よりも高かったが，この坐りの状態に達する時間を比較すると新鮮（当日）なものは約20時間，2日貯蔵のものは33時間，4日貯蔵のものは46時間，7日貯蔵のものは72時間を要し，鮮度低下にしたがい坐りに要する時間が長くなり，冷凍7日のものは不完全な坐り，冷凍1カ月のものはほとんど坐りの状態が現れなかった。

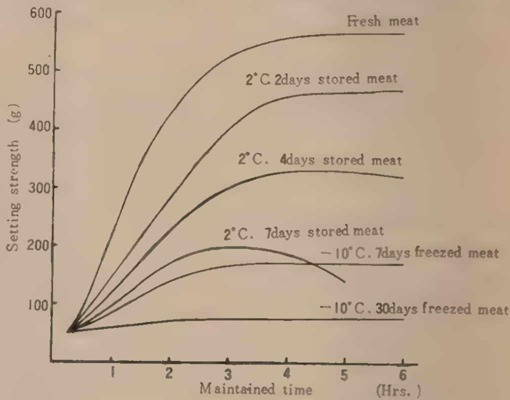


Fig. 2. Relation of setting strength of fish meat paste with fall of the freshness and freezing storage.
Material : Alaska pollack meat
Moisture : 83.4%
Maintained temp. : 13℃.

坐りの強さの最高値を比較すると新鮮（当日）のもの1に対し，2日貯蔵のものは0.823，4日貯蔵0.628，7日貯蔵0.354冷凍7日0.306となり鮮度低下，または冷凍により著しく坐りの強さが低下する。擂身を10℃に放置した場合，新鮮および2日貯蔵のものは96時間後，4日貯蔵のものは72時間後，7日貯蔵のものは48時間後それぞれ異臭を発し腐敗の徴候が現れた したがって鮮度良好な場合には十分擂身が坐る迄長時間放置することが可能であるが，不鮮原料の場合には放置時間を短縮しなければならず蒲鉾の足は一層劣ることとなろう。

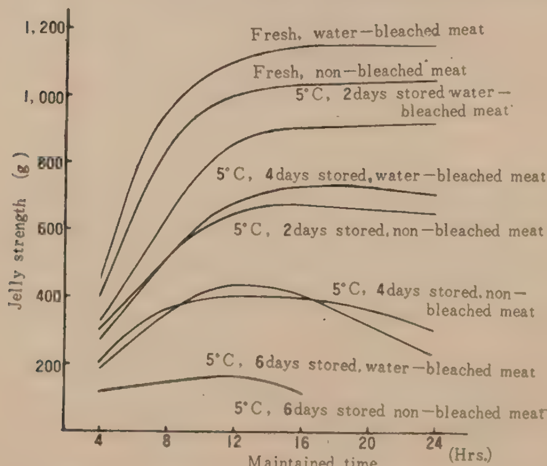


Fig. 3. Relation of jelly strength after steaming with freshness of materials and water-bleached treatment.
Material : Alaska pollack meat.
Moisture : 83.5%
Maintained temp. : 25℃.

（3） **原料鮮度，並びに水晒の有無と足の強さ**

前回とほぼ同程度の鮮度の試料肉を5℃の恒温器中に貯蔵し，一定時間後その中より一部をとり常法にしたがい擂身としたもの（水晒区）水晒行程を省略したもの（未晒区）の2種をつくり25℃に放置し，放置時間と蒸煮後の足の強さを比較した。この場合，擂身中の水分含量が足の強さに影響するので，未晒区および水晒区とも水分含量が等しくなるよう調節した。その結果は第3図に示す通りであり，水晒区では新鮮原料（当日）の足の最高値を1とすると2日貯蔵後は0.800，4日

貯蔵後は0.635，6日貯蔵後は0.378となり，未晒区では同様に新鮮時の足の最高値を1.00とすると2日貯蔵後は0.641，4日貯蔵後は0.383，6日貯蔵後は0.158となり，鮮度と足の強さの関係は前回の坐りの強さの場合とほぼ等しく，また，水晒区は未晒区より足が強く鮮度が低下するにしたがい，その差が大きく現れる。一般に蒲鉾製造の際には水晒を行い，これにより魚肉の色調を白色としているのであるが，足の補強という点からも，これは大切な行程である。水晒により足が強くなる理由としては，水溶性成分の除去が考えられ，鮮度が低下するにしたがい水溶性成分が増大するので，このとき水晒の効果が一層大きく現れたものであろう。

（4） 燐酸塩の坐り，および足におよぼす影響

スケトウダラは鮮度良好な場合は，かなり足の強い蒲鉾とすることができるが，鮮度が低下すると足が極端に弱くなり蒲鉾原料として利用し難くなりやすい。最近，燐酸塩が肉蛋白の保水性，膨潤性を増大し練製品の弾力補強に効果があるとして種々の製剤が市販されているので，これを利用すればスケトウダラの蒲鉾原料としての利用面が拡大できるのではないかと考え試験した。使用した燐酸塩製剤は上野製薬株式会社製のタリンサン（ポリ燐酸ソーダおよびピロ燐酸ソーダの混合），タリンサンK（ポリ燐酸ソーダおよびオルト燐酸ソーダの混合）並びに田辺製薬株式会社製のミートン（ポリ燐酸ソーダ30％，ピロ燐酸ソーダ40％メタ燐酸ソーダ29％，炭酸ソーダ1％）の3種である。これらを0.3％添加し常法により擂身となし15℃に放置し坐りの強さを比較した結果は第4図(a)および(b)(c)に示し，足の強さは第5図(a)および(b)(c)に示した。

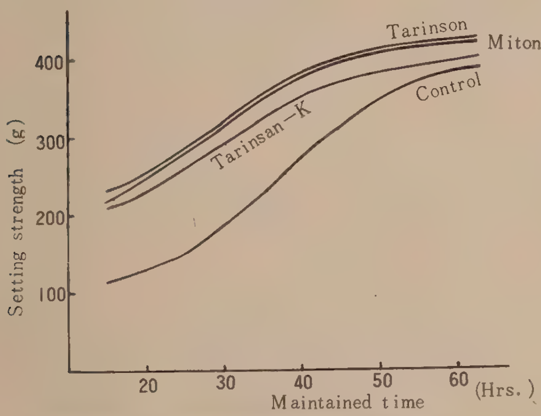


Fig. 4. (a) Effect of phosphates on setting of fish meat paste.
Alaska pollack fresh meat.
(Moisture 84.0%)
Maintained temp. : 15℃.

新鮮原料の場合には燐酸塩添加区の坐りの速度は対照区より早いが，十分に坐らせた場合の坐りの強さは対照区と大きな開きがなくなる。また，原料鮮度が低下するにしたがい対照区との差が僅少になる。燐酸塩製剤のうちタリンサンとミ

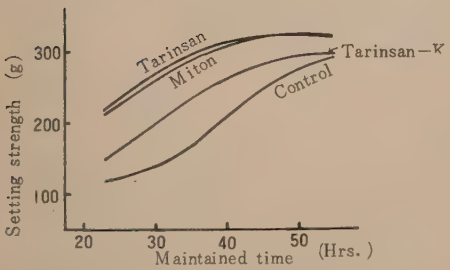


Fig. 4. (b) Effect of phosphates on setting of fish meat paste.
Alaska pollack meat,
stored at 5℃ for 2 days.
(Moisture 84.0%)
Maintained temp. : 15℃.

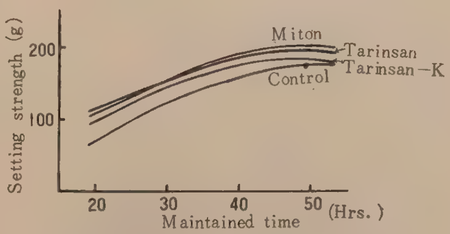


Fig. 4. (c) Effect of phosphates on setting of fish meat paste
Alaska pollack meat,
stored at 5℃ for 4days.
(Moisture 84.0%)
Maintained temp. : 15℃.

ートンとはほぼ効果が近似しているが，タリンサンKは若干劣るようである。

蒸煮後における足の強さは坐りの強さの場合と似たような傾向が見られ，不鮮原料に対しては燐酸塩の弾力補強効果が弱くなる。外観々察によると燐酸塩使用区は蒸煮後における水分の分離が少く保水性が勝れていた。スケトウダラを原料とする蒲鉾は一般に水分が分離し易く，そのため外観，食味を損ずるばかりでなく製品の保蔵性をも悪くするので斯様な点からも燐酸塩の添加は有用と思われる。

B. ナガズカ

（1） 原料鮮度，および擂身の放置温度の影響

漁獲後約6時間を経過した（1～3℃）極めて鮮度良好な魚体より採肉し，一部は直ちに常法により擂身となし，他は2℃4日間貯蔵後擂身とし，10℃およ

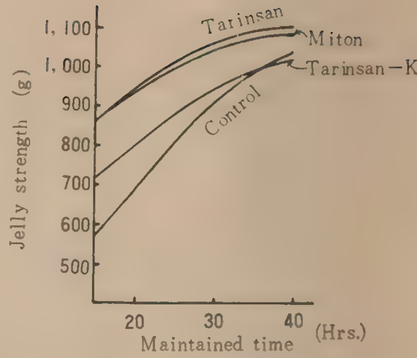


Fig. 5. (a) Effect of phosphates on the jelly strength after steaming.
Alaska pollack fresh meat.
(Moisture 84.0%)
Maintained temp. : 15℃.

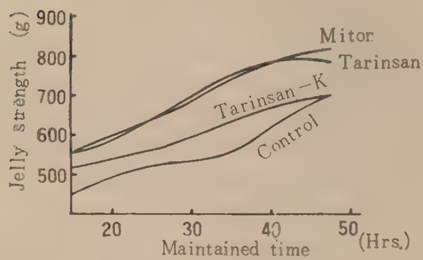


Fig. 5. (b) Effect of phosphates on the jelly strength after steaming.
Alaska pollack meat,
stored at 5℃ for 2 days.
(Moisture 84.0%)
Maintained temp. : 15℃.

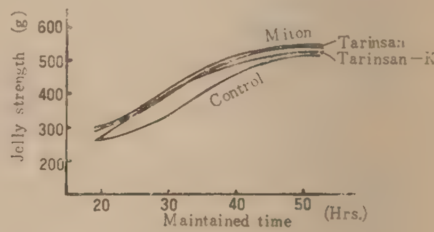


Fig. 5. (c) Effect of phosphates on the jelly strength after steaming.
Alaska pollack meat,
stored at 5℃ for 4 days.
(Moisture 84.0%)
Maintained temp. : 15℃.

び25℃に放置し坐りの強さを比較した結果は第6図(a)に示す通りであり，新鮮肉（当日）と2℃4日貯蔵肉との間に大きな差は見られなかった。放置温度25℃においては7～8時間にして粘着性を失い坐りの状態に達し，10℃では5日間放置しても坐りの現象は見られなかった。この鮮度低下により坐りの強さに差が少いこと，および10℃放置においてはほとんど坐らないことはスケトウダラ肉と比較して著しく異る特徴である。

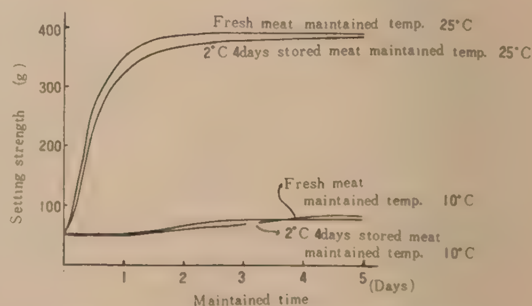


Fig. 6. (a) Relation of setting strength with maintained temperature of Nagazuka meat paste. (Moisture 84.7%)

蒸煮後における足の強さは第6図(b)に示す通りであり，新鮮肉と4日貯蔵肉との間の差は坐りの場合と同様に少く，かつ25℃にて十分に坐らせた場合と10℃に放置しほとんど坐らなかった場合の足の強さの開きはスケトウダラの場合ほど大きく現れなかった。斯様な差は両魚種の蛋白の根本的な

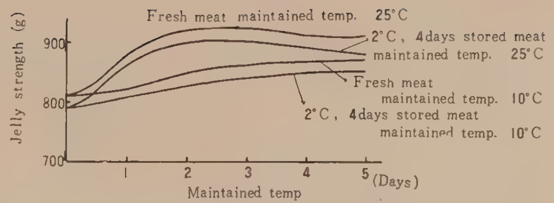


Fig. 6. (b) Relation of jelly strength with maintained temperature of Nagazuka meat paste. (Moisture 84.7%)

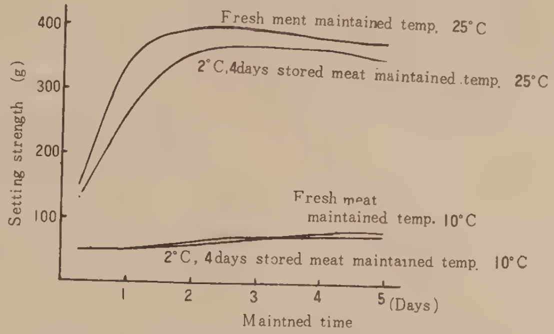


Fig. 7. (a) Effect of Tarinsan on the setting of Nagazuka meat paste. (Moisture 84.7% Tarinsan 0.3%)

の根違に基ずくものであろうが，ナガズカのごとき，いわゆる，強足原料といわれるものでは，蒲鉾製造に際して坐りの行程をあまり重視する必要がないように思われる。

（2） **燐酸塩の効果**

前回と同様に処理した試料につきタリンサン（0.3%添加）の効果を試験した結果は第7図(a)および(b)に示す通りであり坐りの強さは前回（第6図(a)）とほぼ同様でタリンサンの効果は判然と見られなかったが，足の強さは一般に前回（第6図(b)）よりも大きく，特に新鮮肉に対するタリンサンの効果が判然としていた。

（3） **冷凍の影響**

鮮度良好な精肉を−10℃で1カ月冷凍貯蔵したものについて，坐り，および足の強さを試験した結果は第8図(a)および(b)に示す通りであり，新鮮肉に比較してあまり遜色のない結果が得られた。これはスケトウダラが冷凍により蒲鉾形成能を全く失うのに比べて非常に注目すべきことである。なお，タリンサンは冷凍原料に対して弾力補強効果が極めて弱かった。

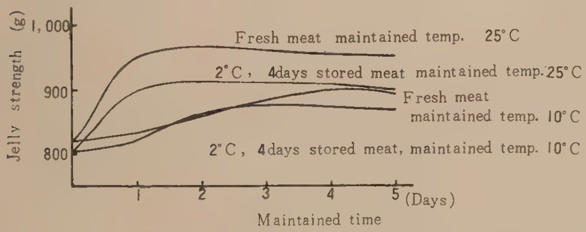


Fig. 7. (b) Effect of Tarinsan on the jelly strength of Nagazuka meat paste after steaming. (Moisture 84.7%, Tarinsan 0.3%).

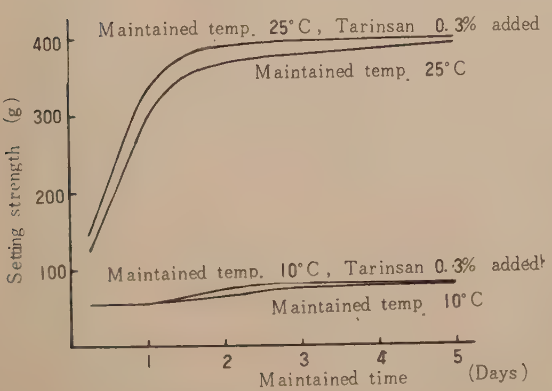


Fig. 8. (a) Setting phenomenon of frozen (at −10℃, for 30 days) Nagazuka meat.

C. スケトウダラおよびナガズカのアクトミオシン区蛋白について

スケトウダラとナガズカの蒲鉾形成能を比較すると著しい特異性が見られたが，これは両者の肉質の根本的な差異に基ずくものと考えられる。また，食塩がなければ蒲鉾は作れなく，原料の水晒しにより蒲鉾の足が強くなることから塩溶性蛋白に重要な関係があることが想像される。平野,[4] 北林,[5] 三宅等[6] もミオシン区蛋白が魚肉の蒲鉾形成能に関与していることを指摘している。よって原料鮮度，並びに冷凍により塩溶性およびアクトミオシン区蛋白の量が如何に変化するかを測定した処第1表のごとき結果が得られた。スケトウダラの場合は塩溶性蛋白（5

%食塩水）は鮮度の低下に伴い漸減し，冷凍した場合は当初の約¼前後に著しく減少しており，ナガズカの場合は2℃4日貯蔵後に新鮮時より増加し冷凍1カ月後は約60%に減少している。アクトミオシンはスケトウダラの場合，鮮度低下により一時増加するが，以後漸減し冷凍により急激に減少して1カ月後にはほとんど消失しており，ナガズカの場合は冷凍1カ月後においても新鮮時の約½程度

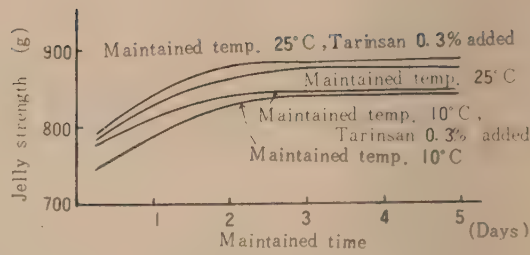


Fig. 8. (b) Jelly strength of frozen (at −10℃, for 30 days) Nagazuka meat.

Table 1. Changes of actomyosin fraction-protein in fish material by freshness and freezing.

Species	Stored days		P_H	Volatile base-N (mg%)	$\frac{\text{Salt soluble protein-N}}{\text{Total protein-N}} \times 100$	$\frac{\text{Actomyosin-N}}{\text{Total protein-N}} \times 100$
Alaska pollack	0	(Fresh)	6.9	7.92	83.04	55.85
	2	(Storage at 2℃)	7.0	10.14	83.67	60.11
	4	(〃)	7.1	14.84	78.70	54.98
	7	(〃)	8.0	58.34	71.00	49.18
	7	(Freezing Storage at−10℃)	7.1	6.56	22.19	0.58
	30	(〃)	7.1	8.50	17.32	trace
Naga-zuka	0	(Fresh)	6.9	7.92	83.47	52.12
	4	(Storage at 2℃)	6.8	9.60	87.02	56.77
	30	(Freezing storage at−10℃)	6.6	3.36	49.65	24.78

が残存している。この結果からアクトミオシン区蛋白の多寡がある程度蒲鉾形成能に影響していることは想像できるが，その量のみによって両魚種の根本的な差異を比較することは無理であり，蛋白の質の相違がより大きく影響しているのではないかと思われる。岡田等[7]も蒲鉾の足を大きく支配するものは原料魚肉蛋白の質であろうと述べておる。

要　　約

スケトウダラおよびナガズカについて，蒲鉾形成能を検討した結果を要約すると次の通りである。

(1) 放置温度が高いほど，摺身の坐りは早くなるが，スケトウダラの場合には20℃前後の温度が適当であり，37℃では蛋白の熱変性による戻りが現れ，2℃では坐りに長時日を要し，この間に摺身が変敗する。

(2) 坐りの強さの最大になる時期と蒸煮後の足の強さの最大の時期とは，ほぼ一致するが，足の強さは坐りの強さよりも最初急激に増加し以後緩慢となるので，実際に蒲鉾をつくる場合には坐りの強さが最大に達するまで摺身を放置する必要はない。

(3) スケトウダラは原料鮮度が低下するにしたがい坐りの強さがはなはだしく低下し易いので，蒲鉾原料には極めて新鮮なものを選ばなければならない。

(4) ナガズカは鮮度が低下しても坐り，および足の強さは新鮮時と大差はなく，また，坐りの不十分な摺身からも足の強い蒲鉾をつくりうる。

(5) 冷凍貯蔵によりスケトウダラはほとんど蒲鉾形成能を消失するが，ナガヅカはかなり良好な坐りおよび足の強さを示す。

(6) スケトウダラを原料とする場合，水晒区は未晒区より蒲鉾の足が強く，鮮度が低下するにしたがいこの

差が大きくなる。

(7) 燐酸塩製剤は新鮮魚肉に対し蒲鉾の弾力補強効果があり，また，保水性が高まるので蒸煮後における水分の分離が少い。不鮮魚肉に対しては効果が極めて少くなる。

(8) 燐酸塩製剤のうちタリンサンとミートンとはほぼ同様な効果が見られ，タリンサンKはこれ等より効果が劣る。

(9) スケトウダラは冷凍によりほとんどアクトミオシン区蛋白が消失するが，ナガズカはその減少量が少く，このことからアクトミオシンは魚肉の蒲鉾形成能に重要な関係があると考えられる。しかし新鮮肉のアクトミオシン区蛋白の含有量はスケトウダラとナガズカとの間に大差がなく，また，鮮度低下によるその量の変動が少いことから蒲鉾形成能は魚肉蛋白の質に左右されるものであろう。

終りに御協力を得た武田二美雄技師に深謝する。

文　　献

1) 志水，清水 (1955)： 日水誌，21 (7)，501.
2) 松本，新井 (1952)： 日水誌，17(20)，377.
3) Dyer, French, Snow (1950)： J. Fish. Res. Bd. Can., 7，585.
4) 平野 (1939)： 日水誌，8 (1)，29.
5) 北林 (1954)： 本報告，(11)，126.
6) 三宅，林 (1956)： 日水誌，22 (1)，48.
7) 岡田，山崎 (1956)： 東海水研報告，(13)，85.

水産物の低温貯蔵に関する研究
第1報 凍結スケトウダラのDripについて

田中 修・久保 正・高山幸夫

Studies on Freezing and Refrigeration of Marine Products
Part I. On drip in frozen muscle of the Alaska pollack

By

Shu TANAKA, Tadashi KUBO and Yukio TAKAYAMA

Studies were undertaken on the drain of drip in frozen muscle of the Alaska pollack and on how to prevent drip.

1) Drain of drip in the frozen Alaska pollack muscle was remarkable; the amount of it exceeded 30% of sample weight immediately after freezing and become 50% after 35 days' storege.
2) Differences in the amount of drip correspondent to freshness of muscle could not be found.
3) When PH was alkaline, the amount of drip was slightly reduced and it was remarkably inhibited by the use of salt.
4) If the concentration of the salt solution was more than 4%, amount of drip decreased. Result was better when immersed in the solution before freeezing than when after defrosting.
5) Drain of drip was greatly reduced, when salt was scattered. By the using 3% salt in muscle, the amount of drip was decreased to about one-fifth of that in uutreated muscle.

緒 論

スケトウダラは北海道における重要魚族の一つであって，そのほとんどが加工用原料として処理されている。その処理形態からみると，乾製品，塩蔵品，ねり製品，あるいは調味加工品であり，冷凍食品，または高次加工原料としての冷凍貯蔵処理はほとんど行われていない現状である。

この理由としては，一般にスケトウダラ製品は他魚種のそれに比してかなり低廉であるため，冷凍品を原料とした企業性がきわめて小さいことにもよろうが，他方，凍結貯蔵中における品質の低下がはなはだしいことにも起因すると考えられる。凍結貯蔵による品質低下の一つのあらわれとして融解時における Drip があげられる。スケトウダラの Drip 生成量は他魚種に比してきわめて高い（50%以上に達する）ことは特異的な現象である。

筆者等はまずDrip生成の状態をしらべ，既往の研究[1,2]を基準としてDrip防止法について基礎的な検討を行ったので報告する。本研究を行うにあたり種々御指導をいただいた北水試加工部長[illegible]氏に感謝する次第である。

I Drip の生成について

Drip 生成の機構については，未だ明らかでないが，主として凍結貯蔵中における魚肉蛋白の変性に基ず

く，水和性の消失があげられ，また氷結晶の生成による組織の破壊が一因をなすともいわれており[3]，Drip 量に関係するものとして，凍蔵の期間および温度，解凍方法，鮮度等があげられている[4]。

本実験においては，スケトウダラの凍結貯蔵中における Drip 生成量と蛋白質の変性程度の関係，および原料魚の鮮度の影響について検討した。

試料魚は1958年2月中旬，北海道雄冬鱈場において延縄漁法によつて漁獲された鮮度良好なるスケトウダラを用いた。

試料魚の精肉を採取し，10mm³ の大きさに細切し，よく混合して均一となし，内径 50mm のポリエチレン製チューブに 100g 宛を詰め密封し供試した。以後の試料調整は，これと同様に行った。

圧出液の測定方法；

通常冷凍魚の Drip の測定は，自然流出液（Free Drip）と圧出液（Expressible Drip）の両者が測定されるが，本実験においては，圧出液のみについて測定を行った。したがって文中における Drip は，特に註のない限り圧出液をあらわしている。

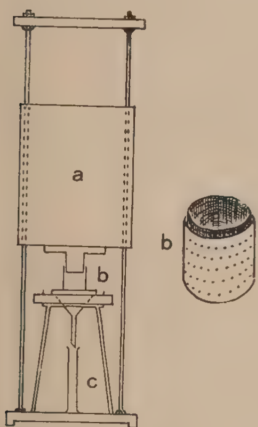


Fig.1. The apparatus of determination of expressible liquid.
a…the chamber that is laid desirable wight in it.
b…metallic cylinder that has many small halo on side, sample placed in it is pressed by a.
c…the expressible liquid oftain is collected in it.

試料50 g を試料罐(b)に入れ，徐々に加圧し20分後に0.5kg/cm²の圧力とし1時間放置後，圧出前後の重量差を Drip として算出した。なお，測定は10±2℃の温度で行い，少くとも2回以上の測定によって圧出液量を決定した。

凍結・貯蔵および解凍方法；

−20〜−23℃で空気凍結を行い，スケトウダラ肉の凍結曲線を測定した結果は Fig.2に示した通りである。

スケトウダラ肉の凍結点は−1〜−1.2℃ の間にあり，海産魚としては比較的高い方である。この条件における凍結所要時間は約2時間であり比較的急速に凍結し得た。凍結後，−17±3℃ で貯蔵した。

解凍は0±1℃の冷蔵庫準備室に1夜放置し，翌日約10℃の室に移し，中心温度が3〜5℃に上昇した時にとり出し実験に供した。

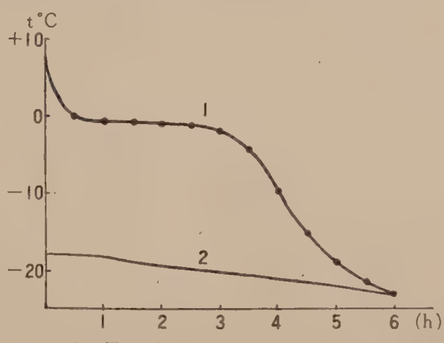


Fig. 2. Freezing curve. sample temprature (1) and room temprature.

(1) 凍結貯蔵中における蛋白質の変性とDripの関係

凍結した試料を−17±3℃の冷蔵室で35日間貯蔵し，その間，適宜に一部を取出し圧出液量の測定，供試肉の5%食塩水可溶性窒素，圧出液中の全窒素，蛋白質窒素を測定した。

Drip 量（Fig.3）は凍結直後において，すでに原重量の30% を上廻り，その後，徐々に増加し35日目では遂に50%に達する。これを他魚種の Drip 量に比較すると，サバ[5]，ホッケ[6]肉の約2倍量であり，凍結貯蔵2週間後では，指先で軽く触れたくらいの微圧でも相当量の液汁が流出してくる状態である。このようにスケトウダラ肉の Drip 生成量は非常に大きく，特異性がみられる。また Drip の増加に伴って，圧出後の肉の水分量は減少し，35日目では72%となり，多脂魚の生鮮時における水分量に相当することは興味深い。

供試肉の5%食塩水に対する窒素の溶解度（可溶性-N/全-N）(Fig.4(a))は，凍結直後急激に減少し，凍結

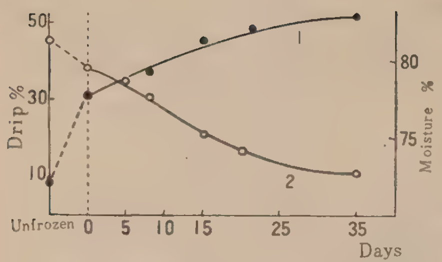


Fig. 3. Variation on drip (%) (1) and moisture (%) after drip drained (2) in muscle stroed at -17± 3 ℃.

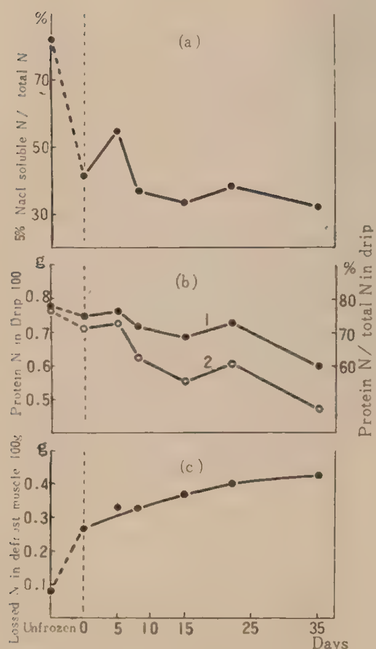


Fig. 4. Change of nitrogens in muscle stored at -17± 3 ℃.
a…ratio (%) of soluble-N in 5% NaCl per total-N in muscle.
b…proten content (g) in drip 100cc (1) and ratio (%) of (1) per total-N in drip (2).
c…lossed-N (g) in defrost muscle 100g.

過程における肉質の変性程度は，貯蔵中のそれよりもはるかに大きいことを示した。宇野，中村[7] の実験によると，スケトウダラ肉の凍結貯蔵中におけるアクトミオシンの量を測定した結果では，1週間で約98％が減少し，30日後で痕跡程度となり，その変性の著しいことをみている。また，Drip 中の蛋白質窒素量 (Fig. 4(b)) の減少は塩溶性窒素ほど顕著には現われないが，徐々に減少の傾向を示す。Drip 中の主要蛋白はミオゲンと報告[8] されており，やはり冷蔵中に変性して，その溶解度を減少するといわれており[9]，不完全抽出液とみなされる Drip で求めた変性傾向はそのままミオゲンを主とした蛋白の変性傾向を反映し，不完全抽出という点はさほど問題にはならない[10]ようである。

以上蛋白の変性程度が Drip の生成量に影響をおよぼすことが認められる。

つぎに Drip の生成量から損失窒素量を求めると Fig. 4 (C)に示した通りであって，貯蔵22日以降では肉の全窒素 (2.5%) の約 ⅙ 量強が損失することになり，その栄養価も大きく減少することになる。

(2) 鮮度と Drip の関係

漁獲後6時間を経過したと推定される試料の中から略同重量，同型のものを選び，3尾を1区分としてポリエ

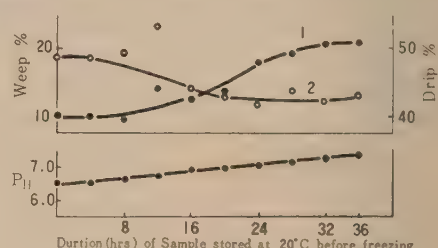


Fig. 5. Effect of freshness on weep (%) (1) and drip (%) from muscle stored at -8±2℃ for a month.

チレン製の袋に入れ密封し，20℃ の恒温器に放置し，4時間毎に1区分をとり出し，試料を細切後，2分し，Weep* 量を測定し他の一部の試料を凍結後 −7±2℃ の冷蔵室で1カ月間貯蔵し，その Drip 量を測定した。

鮮度の状態では20℃恒温器中に16〜20時間経過した試料は腹腔内に異臭を呈し，肉質は若干軟化の傾向がみられ，加工用原料としては限度と思われ，28時間以上経過した区分では，かなり腐敗は進行しており最早食用としては適しない状態であった。

Weep は鮮度の低下に伴って増加し，24時間経過後（初期腐敗）約20％となり，一定量に達する。すなわち，Weep の生成量は鮮度低下とともに増加する。これをさらに検討を加えることによって，鮮度判定の一

* 凍結前の鮮肉から滲出してくる液

応の基準になるものと考えられる。

凍結1カ月後の Drip を測定した結果では，12時間経過の区分までは，わずかではあるが増加の傾向がみられたが，16時間経過の区分からは逆に減少した。

谷川等のホッケ[6]，イカ[11]についての報告によると，鮮度の低下するにしたがって Drip 量は増加し，この生因については鮮度低下に伴って肉蛋白の水和性が低下するためであるとしている。スケトウダラ肉は前述のように特に Drip の生成量が多いので，鮮度差による Drip 量の差違はホッケ，イカのように明白にはあらわれなかった。

II　Drip 生成の防止法についての検討

Drip 防止方法としては TAYLOR[1] の P_H 調節の研究，また TARR[2] による食塩水浸漬法による効果が報告されており，さらにそれ等については谷川等によって，ホッケ肉[6]，イカ肉[11]に適用した報告があり，これらの防止手段は魚肉中の水の活動度を低下せしめ，蛋白と水の結合力の増大を図ることにあることを指摘している。

Iで示したようにスケトウダラの Drip は他の魚種にみられないほど多量に生成される。そこで筆者等は TAYLOR，TARR の防止理論をスケトウダラに適用してみた。

(1)　P_H の影響について

(a)　P_H 単独の場合

P_H の調節は 1.0N HCl と 1.0N NaOH を用いた。P_H 調節液 200cc に対して細切した試料 100 g を2時間浸漬し，竹スダレ上で10分間水切後，濾紙で軽く表面を拭いとり，秤量して前重量に対する比率を膨潤度とした。

Weep を測定し，残りの試料は凍結後 -8 ± 2℃ に21日間貯蔵し Drip を測定した。

膨潤曲線は Fig. 6 (a) に示したが，酸性側においては肉の P_H 5.5～5.7 で膨潤度は最小となり，肉は固く白色に収縮しスケトウダラ肉の等電点帯を示すものと考えられる。また，これより酸性では肉の膨潤度は急激に上昇し，40％膨潤度を示し，肉は白色の柔い Gel が形成される。また，アルカリ側においては P_H の上昇に伴い膨潤度は徐々に大きくなり浸漬液は溷濁し肉は Gel 状となる。

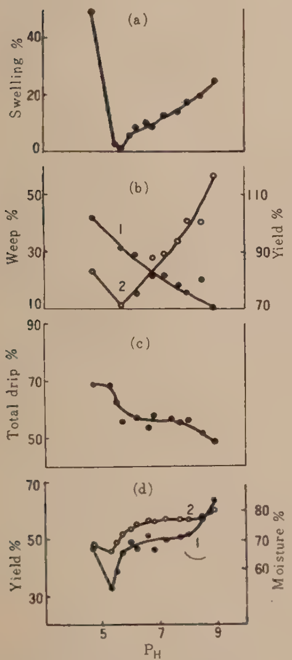


Fig. 6. Effect of P_H on swelling, weep and drip.
a…swelling of fresh muscle
b…weep (%) (1) and yield (%) after weep drained of fresh muscle (2).
c…total drip (%) from muscle stored at -8 ± 2℃ for 3 weeks.
d…yield (%) (1) and moisture (%) of muscle after drip drained (2).

Weep についてはFig. 6 (b) に示した通りであって酸側からアルカリ側にかけて減少の傾向を示す。すなわち，等電点帯より酸側では吸水により増加した分の水を放出し，等電点附近 (P_H 5.4～5.8) ではさらに約30％の水を放出する。

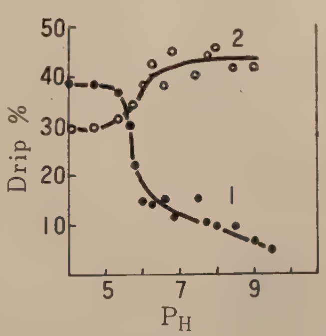


Fig. 7. Effect of P_H on free drip (%) (1) and expressible drip (%) (2) from muscle stored at $-8\pm$ 2℃ for 3 weeks.

酸側における膨潤は蛋白との水和力が非常に弱いためであろう。逆にアルカリ側では膨潤度の大きくなるに従って Weep は減少し，比較的強固に蛋白と結びついているものと思われる。

つぎに凍結21日目の Drip の状態は Fig. 6 (c) に示したが

全—Drip については Weep に約 30 %を附加したような曲線を示し，凍結によってさらに約 30 %の水が放出されたものと考えられる。

解凍時流出液と圧出液を比較すると (Fig. 7) 等電点附近を界として，酸側では流出液が高く，アルカリ側では圧出液が高く対応曲線を示す。これは谷川等[6]の実験結果においても認められている。Drip 量は膨潤後の重量に対する比率で現わしているので，Drip 測定後の肉の水分量，ならびにその原肉に対する比率（実収量）についてみると Fig. 6(d) の通りであって，水分含量は等電点附近では 65～68% と最小で，PH 9.0 では 80 %を示し鮮肉に近い水分含量となる。また実収量では等電点附近では 33 %で，実に 67 %の損失であり，アルカリ側に移行するにしたがって増加し，PH 9.0 では 72 %を示し，その損失量は 28 %に止まる。

これらの結果からスケトウダラの Drip を防止するためには，肉の PH 価をかなりアルカリ側に調節する必要がある。

(b) 食塩の存在による場合

つぎに 3 %食塩溶液における PH の影響を調べてみた。PH の調節，浸漬方法は (a) の通りである。

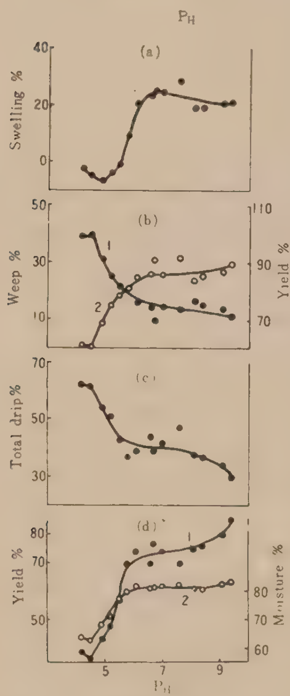


Fig. 8. Effect of various PH in 3 % Nacl solution on swelling, weep ane drip.
a…swelling of fresh muscle.
b…weep (%) (1) and yield(%) after weep drained of fresh muscle (2).
c…total drip(%) from muscle stored at －8 ± 2 ℃ for 3 weeks.
d…yield (%) (1) and moisture (%) of muscle after drip drained (2)

膨潤曲線は Fig. 8 (a) に示したが，食塩の存在しない場合に比較すると，著しくその曲線の型が異り，等電点より酸側では塩の存在が肉の膨潤を阻害するものと考えられ，TARR[2]，岡田，多田[12]等の実験においても認められている。

Weep については Fig. 8 (b) に示したが，膨潤曲線と密接な関係がみられる。

凍結 21 日後の Drip 量は Weep の曲線に約 20 %を加えた曲線で表わされる。流出液と圧出液 (Fig. 9) を比較すると PH 単独の場合の傾向とよく類似しているが，流出液は等電点よりアルカリ側においては，はるかに小さく，食塩の存在において流出液の生成は抑制されるものと思われる。

また，Drip 測定後の水分含量，ならびに実収量 (Fig. 8 (d)) から判定すると，その差はきわめて大きくなり，水分量では 62 ～ 83 % の間で示され，実収量では 36 ～ 85 %という範囲で表わされ，食塩存在の場合には，そのアルカリ側における Drip 生成防止効果は PH 調節単独よりもはるかに大きいことを示すものである。

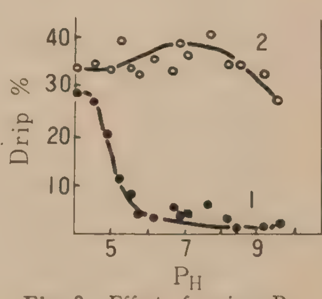


Fig. 9. Effect of various PH in 3% Nacl solution on free drip (%) (1) and expressible drip (%) (2) from muscle stored at －8 ± 2 ℃ for 3 weeks.

(2) 食塩の影響について

(a) 食塩水浸漬の場合

食塩水の浸漬は凍結前処理として浸漬を行う区分と解凍時に浸漬を行う区分の両者について検討した。

食塩水の濃度は 15 %までとり食塩水 200cc に対して，細切した肉 100 g を 2 時間浸漬を行った。

解凍肉は－17± 3 ℃に約 1 カ月間貯蔵したものであり，中心温度が 3 ℃に上昇したときに各食塩水に浸漬した。

食塩水浸漬による膨潤に

ついては，Fig. 10 (a)に示した通りであって，新鮮肉では食塩濃度3％附近から急激に膨潤し，7％で最大に達するが，解凍肉では4％から徐々に膨潤の傾向を示し，10％以上に最大となり，8％からでは，新鮮肉の場合よりも，むしろ高い膨潤度を示し冷変性により食塩水中における水和現象が変化したものと想像されるが，解凍肉膨潤現象についてはさらに検討する必要がある。

新鮮肉のWeep量についてはFig.10 (b)に示したが，膨潤度と密接な関連性を示し，膨潤度の高くなるに従ってWeep量は低下する傾向が見受けられる。

また，凍結前浸漬区のDrip量についてFig.10 (c)に示したが，Weepの曲線とよく類似しており膨潤度の高いものほどDrip量は小さい。

解凍肉のDrip量はかなり高く，膨潤度とあまり比例していないようである。

つぎに圧出後の実収量についてみると (Fig. 10 (d)) 一層その傾向が明瞭にあらわされ，凍結前浸漬区では濃度4％からは実収量85％を上廻り，保水状態は良好であるが，解凍時浸漬区では，その保水状態はかなり低く，Drip 防止法としては凍結前に浸漬することが，はるかに有利である。

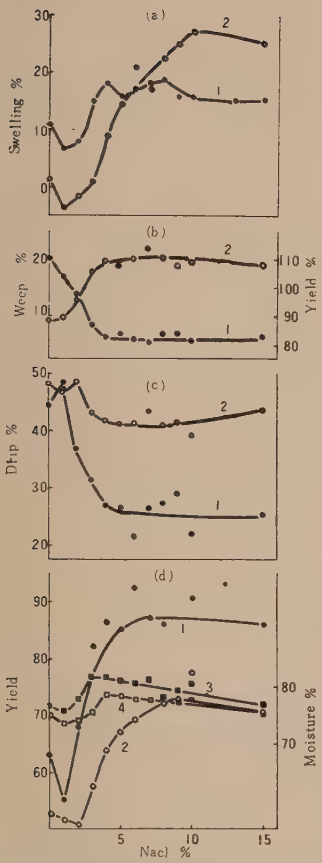


Fig. 10 Effect of immersing in various Nacl concentrations of fresh and defrost muscle (stored at -17 ± 3 ℃ for a month) on swelling, weep and drip.
a…swelling (%) of fresh (1) and defrost muscle (2).
b…weep (%) (1) and yield (%) after weep drained in fresh muscle (2).
c…drip (%) of fresh stored at -17± 3 ℃ for a month (1) and defrost muscle.
d…yield (%) of fresh (1), defrost (2), moisture (%) of fresh (3) and defrost after drip drained (4).

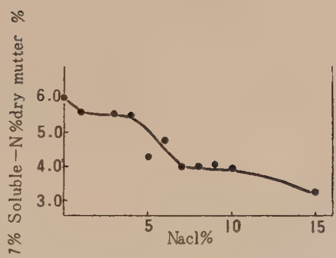


Fig. 11. Ratio (%) of soluble-N in 7 % Nacl per dry matter of muscle immered in various concentrations of Nacl, samples stored at -17 ± 3 ℃ for a month.

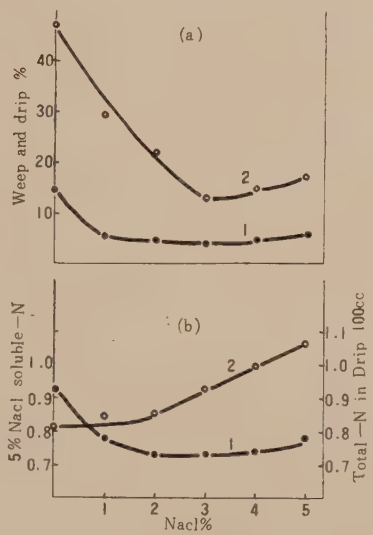


Fig. 12. Effect of Nacl scattered on muscle.
a…weep (%) (1) and drip from muscle stored at -17± 3 ℃ for 3 weeks (2).
b…ratio (%) of soluble-N in 5% Nacl of muscle (1) and total-N (g) in drip 100cc (2).

凍結前浸漬区の肉から得た7％食塩水可溶性窒素量から，その蛋白変性程度をみるとFig. 11 のごとくであって，食塩濃度の増加に伴って，可溶性窒素量は減少（不溶性化）の傾向を呈し，食塩濃度7％以上で最

小となる。蛋白の冷変性は主として塩析であるといわれており[13]，魚肉の水分に対して，約7%の食塩濃度となったときに変性がもっとも著しいことが報告されている[13]。

一般に Drip の生成は，蛋白の変性に起因し，変性程度の大きいものほどその生成量は大きいといわれているが，食塩の存在においては，変性のみでは説明できないことであり，食塩添加による Drip 防止機構は肉中の水の自由エネルギー差（ΔF）を高めることであるといわれている[14]。

(b) 食塩撒布の場合

食塩水浸漬の場合には，膨潤（吸水）のため魚肉の Drip 量が実際にどの程度防止し得たか明瞭にあらわれないため，つぎに魚肉に直接に食塩を撒布した場合の Drip 防止効果について検討してみた。

試料を細切後，食塩を加えた量がちょうど 100 g になるように 1 g から 5 g の食塩を可及的均一に撒布しポリエチレン製袋に入れ，約 5 ℃の低温で 1 昼夜放置し，凍結後−17 ± 3 ℃の冷蔵室で 3 週間貯蔵した。

Weep 量，Drip 量（fig. 12 (a)）とも食塩の添加によって減少し，食塩 3 %において最小の価を示す。

特に Drip の防止効果は著しく，3 %においては，対照（無添加）の約 1/5 量の生成量にとどめ得る。

5 %食塩水可溶性窒素を測定した結果（Fig. 10 (b)）では，食塩の添加によって，変性の傾向が見受けられる。

Drip 中の全窒素は，食塩の濃度が高くなるにしたがって，増加する傾向にあり，塩溶性蛋白を含むためであると推定される。

以上のごとく，食塩の添加によって，スケトウダラのように特に Drip 生成量の高い魚種においても十分にその防止効果が期待できる。

事実，北水試西谷外によって，試作されたスケトウダラのステーク[15]（食塩 1.5 %，ポリ燐酸塩 1 %，砂糖 1 %，味の素 0.3 %を含む）では，Drip 生成による品質の低下はまったく認められていない。

要　　約

凍結スケトウダラ肉の Drip の生成，ならびにその防止方法について検討した。

(1) 凍結スケトウダラ肉の Drip 生成量は非常に高く，凍結直後で約 30 %，35 日間の貯蔵では約 50 %に達する。

(2) 鮮度差による Drip 生成量は明白にあらわれなかった。

(3) PH 調節による Drip 防止効果は，アルカリ側において，ややみられ，食塩の存在において顕著である。

(4) 食塩水の濃度を 4 %以上にすると，Drip 生成量は少く，解凍時に浸漬するより，凍結前に浸漬する方が有利である。

(5) 食塩を撒布した場合には，Drip 生成量は非常に少く，3 %の添加においては対照（無添加）の約 1/5 量に止め得る。

引　用　文　献

1) G. L. Taylor (1930)： Ice ond Refrigeration, 79 (6).

2) H. L. A. Tarr (1942)： J. Fish. Res. Bd, Canada, 5 (5), 411.

3) R. M. Love (1955)： J. of Science of Food and Agriculture, 6 (1), 30～37（天野慶之：冷凍, 31 (342), 348～353).

4) 日本冷凍協会編 (1957)： 冷凍便覧, P. 579.

5) 細野重忠，高山幸夫 (1953)： 北水試月報, 10 (4), 22～34.

6) 谷川英一，三浦康夫，秋葉稔 (1953)： 冷凍, 28 (313), 294～304.

7) 宇野勉，中村全良 (1958)： 北水試月報, 15 (6).

8) 加藤瞬郎 (1948)： 水産冷凍食品学 (総論), P. 354 山根書店.

9) 吉村克二，久保周一郎 (1951)： 日水誌, 17 (2), 74～82.

10) 田中武夫，田中和夫 (1950)： 冷凍, 32 (351), 6～23.

11) 谷川英一，秋葉稔，河上一夫 (1956)： 冷凍，31 (342), 20～26.
12) 岡田稔，多田節子 (1953)： 日水誌，19 (3), 178～184.
13) 清水亘，日引重幸 (1952)： 日水誌，17 (10), 301～304.
14) 秋葉稔 (1955)： 日水誌，20 (10), 937～939.
15) 西谷喬助，武田二美雄 (1958)： 未発表.

海藻の生体活性と品質との関係
第1報　アナアオサ生体活性指標としてのＴＴＣ還元反応の検討

駒木　成・飯田　優・松村 和子

On the Relation of Viability and Quality in Marine Algae
1. On the use of TTC reaction as a viability indicator for *Ulva pertusa* KJELLM.

By

Shigeshi KOMAKI, Atsushi IIDA and Masako MATSUMURA

The effect of copper on the inhibition of viability of *Ulva pertusa* KJELLM. was studied when this alga was immersed in sea water treated with active carbon and containing various concentrations of copper sulfate and Cu-EDTA compound.

The grade of viability of this alga was determined by the activity of formazan production in TTC-treated alga. The results of this experiment may be summarized as follows.

1. It seemed that as a result of immersion for 93 hrs. the copper content in this alga increased and the copper content in the sea water solution decreased.

2. Viability of *Ulva pertusa* was lost after 24 hrs. when immersed in sea water solution containing 10^{-4} mol. copper sulfate and 10^{-4} mol. Cu-EDTA compound.

3. *Ulva pertusa* immersed as above was treated with TTC sea water (2mg/cc) at 30°±5°C under reduced pressure and 100W illuminating electric tube for 2 hrs. The viability of this alga was determined by the following methods : observation of color of this alga produced by formazan was graded by naked eyes or microscope ; estimation of reduced TTC amount (mg) was calculated from optical density of toluene extract from TTC-treated alga using standard curve of reduced TTC amount caused by *l*-ascorbic acid.

緒　　　　言

海藻の生体活性は，海藻自体の老化や生活環境の悪化（例えば雑藻による生育繁殖の妨害，海流や水質汚濁による環境変化）等に伴って低下したり，障害致死の現象となる

北海道における浅海生産物の代表として知られているコンブについて，その生産実態等を解明した中川氏[1]によると，コンブ乾製品の品質が(1)採取時期，(2)製品時の天候，(3)乾燥時の手入れ等の如何によって左右されると述べている。また採取盛期における採取～乾燥間の時間をなるべく早くすべきであることも述べている。このように天然の，または人為的な原因による生活力の低下は，コンブ乾製品の品質にとって悪い影響を与えているだろうと想像される。

生体活性と品質との関連を研究する場合，先ず第一に処理しなければならない事は，活性度の指標として何を使うかということであろう。海藻の生体活性を知るための生化学的テクニックとしては，最近，尾形・永井氏[2]，尾形氏[3][4][5]がアサクサノリやヒトエグサ組織の生死障害反応指標にＴＴＣを使って良い結果を得ている。なお，植物組織におけるＴＴＣ還元がコハク酸脱水素系によるものか，否かについて，完全な証明はないが，ウズラマメやツルナシインゲンにおける佐藤氏[6][7][8]の研究は，ＴＴＣ還元作用がコハク酸脱水素酵素の活性を反映すると述べている。一方，動物組織や臓器についても，主に酵素と関連を持った数多くの報告[9] etcが知られている。

第1報では尾形氏の方法に従ってアナアオサの活性度指標としてＴＴＣを使い，各種銅濃度溶液に浸漬したアナアオサ活性程度を肉眼的，顕微鏡的に観察しＴＴＣ還元生成物の色調，生成量の測定を行って検討を加えた。また浸漬条件，藻体の銅濃縮についても考察を加えた。

実験の部

1. 浸漬実験

この実験は，ＴＴＣ還元反応条件の吟味と，ＴＴＣ還元量測定をするため，海藻を浸漬したときの状況，さらに藻体と浸漬海水液中，銅量分析を附随的に行った結果である。

材料：本研究所前の突堤壁面，ヌッチ川口附近に生育着生しているアナアオサ *Ulva pertusa* KJELLM. を採取して実験材料とした。

浸漬用海水（PH 8.0，Cl 15.39‰，Cu 3.0 γ/l）：上記，材料生育近傍の海水（PH 8.1, Cl 15.42‰）は近くに流入河川（ヌッチ川）があるため低塩となっているが，この海水を活性炭処理（100g/l）後，東洋濾紙No. 2で濾過して得た自浄海水である。

Table 1. Concentration of reagent in sea water solution.

Series	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Concentration of reagent (Mol.)	Control	$CuSO_4$ 10^{-4}	$CuSO_4$ 10^{-6}	$CuSO_4$ 10^{-8}	$CuSO_4$ 10^{-4} + EDTA 10^{-4}	$CuSO_4$ 10^{-6} + EDTA 10^{-6}	$CuSO_4$ 10^{-8} + EDTA 10^{-8}	EDTA 10^{-4}	EDTA 10^{-6}	EDTA 10^{-8}

浸漬方法：生体活性度に差異を与えるため，第1表に示した如き合計10種* の海水溶液を作り，この溶液300cc宛を500cc容腰高シャーレに入れ，予め自浄海水で洗滌したアナアオサ5個体約10 gをそれぞれ上記10種海水溶液に浸漬した。シャーレは5℃前後の水道水（昭和33年4月8日から4日間）で常時冷却し，浸漬液の温度も常時5℃前後を保つようにした。なお実験期間中，浸漬用海水液のPHを測定したが，第1図に示した如く，70時間の浸漬まではPHの変動があまり著るしくないが，93時間後ではPH 7.0〜5.5に低下した。このため浸漬は93時間で終了し，障害判定は70時間までのものの結果を使った。

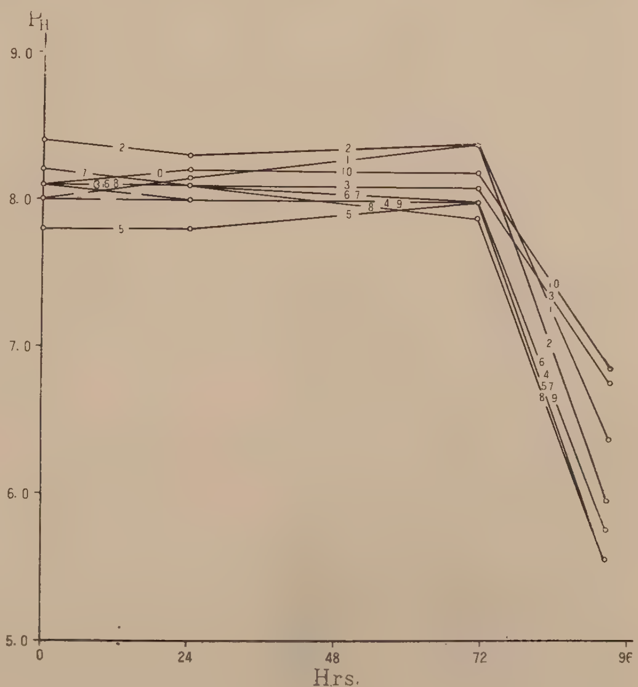


Fig. 1. Variation on PH of sea water solution.

* 使用した EDTA は同仁薬化学研究所製2 Na EDTA である。

P_H の低下は塩分量に差異がないので恐らく重炭酸イオンの増加であろうが，この点についての吟味は行っていないので明らかでない。

藻体中銅量の変化：藻体および浸漬用海水中，銅量を前報[10]同様の方法で測定した結果は，第2表の通りである。なお，各藻体は再蒸溜水で軽く浸漬後，直ちに風乾し，海水は藻体を除いた未濾過水について定量した。

Table 2. Copper content in *U. pertusa* and in sea water solution after 93 hrs.

Series	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Cu γ/l. in dry matter	93.78	1,254.5	105.1	106.6	—	128.30	86.58	97.34	164.9	87.07
Cu γ/l. in ash	392.3	8,724.5	606.4	683.6	—	631.3	460.8	498.9	957.1	469.8
Cu γ/l in medium	—	4,300.	27.5	—	4,680.	25.5	—	—	—	—
Cu γ/l previously added	—	6,300.	63.0	0.63	6,300.	63.0	0.63	—	—	—
Cu γ/l in sea water	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0

銅未添加，あるいは 10^{-6}，10^{-8} モル濃度銅添加海水での藻体グループは，86.6～164.9γ/g（乾物中）の銅量を示している。これは浸漬中に海水中の銅量（3γ/l）を濃縮したのかも知れないが，前報[10]の値より高く（採取場所は同一であるが，その後，川の切替により環境は以前とちがっている），個体差も大きい。銅量の個体差を86.6～164.9 γ/g の範囲とすると 10^{-4} モル硫酸銅に浸漬した海藻は7.6～15倍の増加である。この増加が附着海水中，銅量の影響と仮定しても，個体差最大のもの 164.9γ/g＋63γ/10cc（湿重量10g中，浸漬海水 10ccが混入されているとするとき）で約1.4倍程度のものにしかならない。

これに対して海水中，銅濃度の残存率は68％で32％が海藻に濃縮されたこととなる。同様にして 10^{-4} モル銅＋10^{-4} モルＥＤＴＡでは27％が，10^{-6} モル硫酸銅では56％が，10^{-6} モル銅＋10^{-6} モルＥＤＴＡでは59％が，夫々海藻に濃縮されたものと考えられる。以上の比率は銅濃度が低いほど，海水中の残存率が低いようであり，海藻の金属代謝上興味ある問題である。

いずれにしても，浸漬用海水中，銅量が減少した分だけ海藻に濃縮されたか，あるいは一部，またはほとんどが不溶性となって沈澱しているか，否かは確認していないが，本海藻中，銅量の増加が，含銅海水の単なる附着や等張の細胞間隙水の銅含量増加でなくて濃縮されたものと見て差支えないであろう。

なお，硫酸銅とＥＤＴＡの等モル溶液は，海水 P_H 程度でキレートを作る[11]筈であるが，この点についてＰＶ* 試薬により硫酸銅が全部ＥＤＴＡとキレートを作っていることを確認した。また定性的にＥＤＴＡがやや過剰であることを知った。

2. ＴＴＣ還元反応条件の吟味

前記実験材料について24，53，70時間毎に藻体1個宛を各浸漬液よりとり出し，ＴＴＣ還元反応によって生体活性度の判定を行った。

ＴＴＣ溶液：前記自浄海水100 ccに対し，和光製ＴＴＣ 0.2 gをとかして直ちに使用した。本液は褐色メスフラスコに入れても，1週間後には一部還元されて formazan を形成するので，長期貯蔵ができなかった。

染色時間の検討：各シリーズの藻体を染色する前に，採取直後の藻体を材料として染色時間の検討を行った。即ち藻体中央部から約0.1 g位の切片を切りとり，濾紙で軽く圧して余剰の海水を除去し，これを小型シャーレ内のＴＴＣ海水溶液，約5 cc中に浸漬する。このシャーレを排気槽に入れ，アスピレーターで排気

* ＰＶ試薬は銅がキレートを作っているとき紫色で，作らないときは青色である。ＥＤＴＡで銅キレートを作らした後，少量の銅量を銅キレート液に滴下し，直に青色になれば両者は完全に等モルであるが，紫色のままであればＥＤＴＡが過剰である。

しつつ，槽内中央部の 100 W電球で 10 cmの高さから照明した。槽内の温度は照明の点滅を行って 30°± 5 ℃に調整，1，2，3，4各時間この状態で染色を行った。

染色の程度を検鏡観察した結果は次の通りである。

1時間：倍率 150 で組織の染色が不均一，倍率 600 で小顆粒が多数生成している。

2時間：倍率 150 で組織の染色が均一に行われ，赤染程度も紅色が強く，600 では染色の特に強い部位が細胞1箇宛1箇できている。

3時間：2時間のものと殆ど同一の状況であるが，TTC溶液自体が赤変してくる。また肉眼で葉体の軟化が感ぜられ，色素が溶出して白っぽく褪色する部位が出てくる。

4時間：3時間と全く同様である。TTC溶液の赤変はより激しいようである。

この結果から染色時間は2時間行うこととした。

次に各シリーズの藻体を前記同様染色し，2時間で完了した。藻体片中には組織内に formazan を沈着して紅緑色に染色するもの，染色が弱いもの，または全く赤染しない藻体片がある。これらのTTC還元性の差異を更に次の方法で判定を行った。

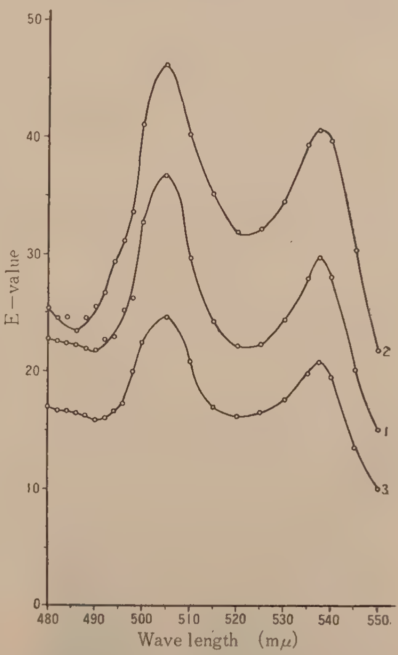
肉眼による組織のTTC染色判定：TTC処理後各個体は濾紙で清拭し，各シリーズの検体と対照を濾紙上に並置し，染色された紅緑色の程度差を肉眼で判定した。即ち，着色の度合を＋±∓－の4階級に分けて判定した。但し＋と±の差は明確につけがたいことが多かったので，多少の差はあれ，生体活性力には同一と見ても差支えない程度で，浸漬前の生体活性力の個体差とも思われる。これら観察の結果は第3表に示した如く，10^{-4}モル硫酸銅液の藻体は24時間以内には完全に活性が失われたことが分る。同じ10^{-4}モル銅に等モルEDTAを加えてキレートにした溶液は，銅イオン解離をしないが，藻体に対しては，活性を失わしめることも知った。これら以外のシリーズについては 10^{-6} モル銅，およびEDTAで染色不完全，活性低下を示すが，それ以外は対照に比して殆ど差がないようである。

Table 3. Effect of copper sulfate and Cu-EDTA compound on viability judged by the results of TTC reaction in *Ulva pertusa*.

Series	Duration caltured for (hrs.)		
	24	53	70
1	+	+	+
2	—	—	—
3	+	+	∓
4	+	+	∓
5	—	—	—
6	+	+	±
7	+	+	±
8	+	+	±
9	+	+	±
10	+	+	+

+ : Visible reddish green on algae, remarkable pigmentation with formazan occuring in tissues. Judged entirely intact.
± : Considerably reddish, tissues partially unpigmented. Judged intact but slightly injured.
∓ : Pale reddish. major part of tissues green. Judged severely injured.
— : Green tint, no pigment at all. Judged entirely dead.

Fig. 2. E-value of toluene extracts (cc) from TTC-treated *U. pertusa*. (g), calculated from optical density measured with Beckman type spectrophotometer as blank toluene at respective wave length.



1 : Extract from TTC no treated algae.
2 : Extract from algae treated by TTC for 1 hr. at 35°± 5℃ under reduced pressure and illuminating 100W electric tube.
3 : Extract from algae treated same as in 2 but without TTC.

還元生成物の吸光度測定：ＴＴＣ処理により赤染した藻体は，余剰のＴＴＣ液を濾紙で軽くふきとり，藻体中央部より 0.15 g 前後秤取，これに水 4 cc，海砂少量とともに乳鉢中ですりつぶして乳濁液とした後，氷醋酸 6 cc，トルエンを 6 cc加えて振とう，上層液を遠心分離して清澄なトルエン抽出液（赤紅色）を得た。またＴＴＣ処理を行わないで染色操作のものと同じ条件においた藻体と，両操作をも行わない藻体も同様にトルエン氷醋抽出を行った。これら抽出液は黄橙色を呈している。以上３種トルエン抽出液をトルエン対照で 480 ～ 550 mμ における E^{1cc}_{1g} 曲線は第２図に示した。なお，吸光度の測定は，島津製ベツクマン型光電光度計を使用した。

第２図から明らかなごとく，３曲線の最大吸収は，いずれも 505,537mμ を示し，最大吸収 505mμ における E^{1cc}_{1g} ではＴＴＣ染色したもの (2) が，(1) や (3) にくらべて約２倍多い。この増加は藻体のトルエン氷醋抽出色素に，ＴＴＣが還元されて生成した formazan の色調が加えられたことに原因するものである。

また染色操作と同じ条件においた(3)が(1)よりも低いのは，抽出される筈の色素が抽出前に保温や照明によって酸化分解，あるいは体外に溶出したためであろうと思われる。

最大吸収 505,537mμ はクロロフイル a[12]（溶剤 90 %含水アセトン）の 505，540 mμ のピークに一致し，また後記の値に比しＴＴＣ染色したものの吸光値が，それほど高く出ていないのは，恐らくこの染色が不十分であったと思われる。

これらの点については，今後更に検討を加えたい。

3． ＴＴＣ還元量の測定

ＴＴＣ還元量の検量曲線をつくり，これから各シリーズ藻体のＴＴＣ還元力価を算出した結果についてのべる。

ＴＴＣ還元量の検量曲線：ＴＴＣ 0 ～0.20 mg/4cc の各シリーズに常温下で飽和苛性カリ水溶液 1 cc，過剰の *l*- アスコルビン酸(和光製)を加えるとＴＴＣは還元されて赤紅色溶液となる。これに氷醋酸 6 cc，トルエン 5 cc で振とう抽出，遠心分離すれば清澄紅色トルエン溶液を得る。この着色抽出液をトルエン対照にして前記光電光度計で測定すると第３図に示した如く，最大吸収が 493 mμ にある。また同光度計で液槽長 10 ㎜で 490,493 mμ および伊藤製クレツト・フイツシヤー型比色計でセル 5 mm，フイルター 480, 530 における吸光値と ＴＴＣ濃度の関係は第４図の示す如く，0 ～ 0.20 mg の間で直線関係を得た。但し苛性カリの量が 0.1 cc では，還元度が弱く 0.20 mgの第４図の吸光値に対し，1/5 の値しか示さない。また直線関係にならなかった。

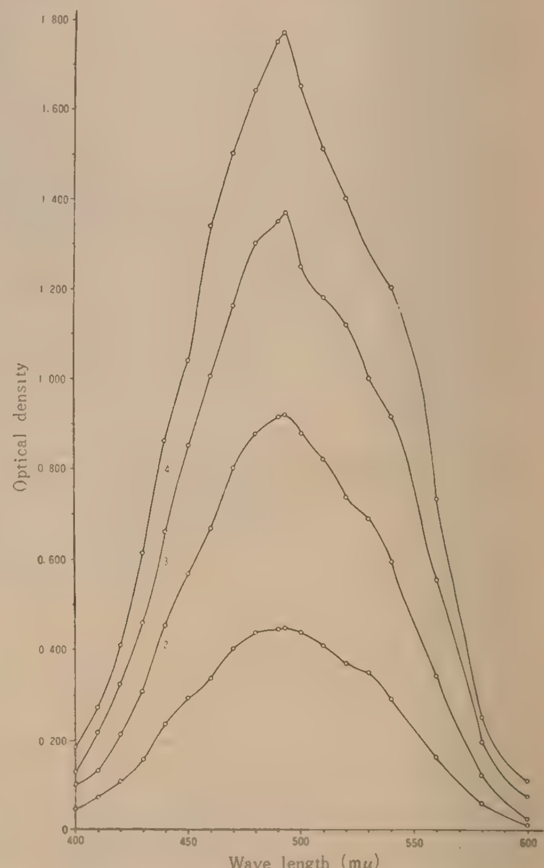


Fig. 3. Absorption curves of toluene extracts from TTC reduced in vitro with ascorbic acid in alkaline-media, measured with Beckman type spectrophotometer.
1～4 : Optical density of extract at every content of TTC, 0.05, 0.10, 0.15 and 0.20 mg respectively.

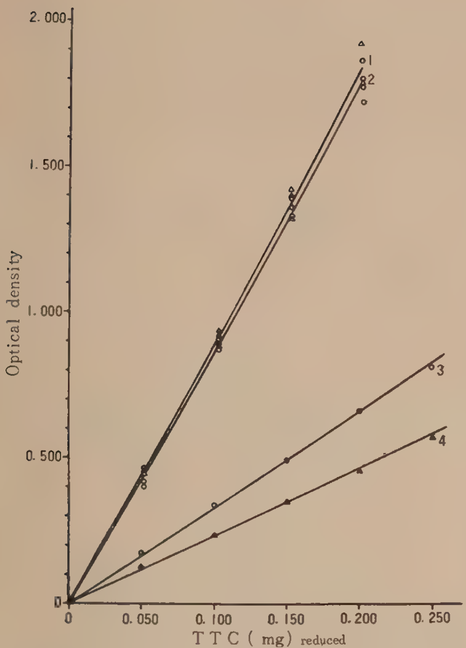


Fig. 4. Linear relation between optical density and content of TTC (mg).

1,2 : Measured with Beckman type spectrophotometer at 493 and 490 mu respectively.

3,4 : Measured with Klett-Fisher type electrophotometer using filter 480 and 530 respectively.

ＴＴＣ還元量の測定

材料：前記浸漬時間53時間における各シリーズの藻体を材料に供した。

方法：還元生成物の吸光度測定したときの染色法，抽出法と全く同じ操作で行った。但し藻体重量は0.05ｇ前後を秤取，藻体重量の正確に100倍容（5cc前後）トルエンで抽出，この抽出液の色調について前記光度計および比色計で吸光値をよんだ。この場合ＴＴＣ染色処理した藻体からの抽出液(a)，ＴＴＣ染色はしないが(a)と同様な染色操作（排気，加温，照明）を行った藻体からの抽出液(b)について，トルエン対照とした(a)液の吸光値(a)，トルエン対照とした(b)液の吸光値(b)，(b)液を対照とした(a)液の吸光値(c)を求め活性判定の基準とした。光度計では(a)，(b)，(c)をよみ第5図に示した。また比色計では，特に実用面を考えて(c)の場合についてのみ測定した。

結果：前記光度計での測定結果は最大吸収(a)が490 mμ附近にあり，最大吸収時の吸光値はＴＴＣ反応肉

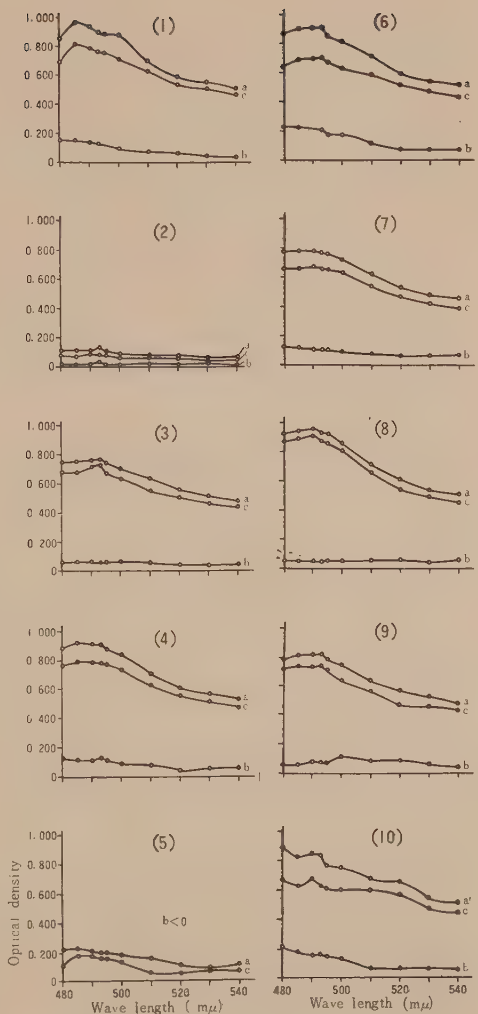


Fig. 5. Absorption curves of toluene extracts from TTC-treated *U. pertusa* previously immersed for 53 hrs. in 0 (1), 10^{-4} (2), 10^{-6}(3) and 10^{-8} mol. (4) of $CuSO_4$, 10^{-4}(5), 10^{-6}(6) and 10^{-8} mol. (7) of Cu-EDTA compound, 10^{-4} (8), 10^{-6} (9), and 10^{-8} mol. (10) of EDTA in sea water solution respectively.

a : Optical density of extract from TTC-reduced algae, as blank toluene.

b : Optical density of extract from alga same as in a but without TTC, as blank toluene.

c : Optical density reduced b from a.

眼判定陽性の（1，3，4，6，7，8，9,10各シリース）抽出液で0.78～0.97の範囲に集約し，最大吸収以外の各波長でも吸光値はよく集約している TTC判定陰性（3,5）の抽出液は吸光値が0.2以下で対照の吸光値の範囲に含まれる このように吸光値による判定は当然のことながら肉眼判定結果とよく一致し，生死の差異が明瞭に知ることができた また，この結果から吸光値が0.2（$E_{1g}^{1cc}\ \lambda_{max.}=20$）附近のものは，トルエン氷醋抽出藻体色素の量を示し，すでに失活した藻体である。

吸光値(c)は，トルエン氷醋抽出藻体色素をブランクとしているので，TTC反応によって藻体組織内に生成した formazan によるものと考えてよい。この最大吸収は formazan の最大吸収 493 mμ 附近（前記光度計について）に見られるべきであろうか，トルエン抽出液は時間の経過とともに次第に赤紅色を失って行くので，その影響をうけて大略490 mμ を中心として485～493 mμ に移動する結果となったのであろう この結果は，また(a)の傾向によく類似している このように，TTC反応陽性のものは，吸光値がいずれも0.7（$E_{1g}^{1cc}\ \lambda_{max.}=70$）以上であるが，陰性のものは0.1（$F_{1g}^{1cc}\ \lambda_{max.}=10$）以下であり生死判定が容易である。

比色計の場合でも同様に第4表から明らかなごとくTTC判定陰性抽出液の吸光値は陽性抽出液の1/10以下になり，死活の差が明瞭に判定できる．この場合10㎜のセルでは吸光値が高かすぎるので5㎜を使い，誤差の少い範囲でよむことができた。

次に，これらの吸光値から第4図の検量曲線を使い，TTC還元量を算出し，第5表に光度計，第6表に比色計の値を示した．

第5表ではTTC判定陽性のものが0.07mg（藻体湿重量当り1.1mg）以上なのに対して判定陰性のものは0.02mg（藻体湿重量当り0.4mg）前後である．従って一般に0.02mg附近のものは失活したものと判定できよう．

光電比色計で測定した第6表によると，計算された還元量は第5表の結果に類似しているし，生死別の還元量の差はむしろ第5表より多い．またフイルター480の方が530より高く，生死別の差も大であるから，本比色計を用いたときの還元量算出にはフイルター480の吸光値から行う方が良好な判定基準となる．

以上の実験結果から生死判定は明らかにすることができたが，生体活性のより細分化された段階について明らかにすることができなかった．従って今後浸漬の方法に加えて藻体の個体差や，藻体の部位差についても検討を加えたい。

Table 4. Optical density of toluene extracts from TTC treated *U. pertusra* immersed for 53 hrs. in respective sea water solution.

Series	Optical density cell width 5㎜	
	Filter 480	Filter 530
1	0.342	0.187
2	0.023	0.011
3	0.362	0.164
4	0.346	0.191
5	0>	0>
6	0.298	0.183
7	0.292	0.164
8	0.381	0.190
9	0.332	0.176
10	0.297	0.184

Table 5. Amount of reduced TTC mg. per 0.05 g. of *U. pertusa* calculated from Fig. 5.

Series	490m		493m	
	a	c	a	c
1	0.108	0.102	0.093	0.089
2	0.019	0.014	0.018	0.010
3	0.093	0.092	0.085	0.084
4	0.107	0.104	0.092	0.090
5	0.023	0.020	0 -	0 -
6	0.107	0.105	0.083	0.081
7	0.093	0.088	0.081	0.076
8	0.113	0.106	0.107	0.100
9	0.095	0.094	0.086	0.085
10	0.099	0.076	0.080	0.077

Table 6. Amount of reduced TTCmg. per 0.05g. of *U. pertusa* calculated from Table 4.

Series	Filter 530	Filter 480
1	0.082	0.101
2	0.005	0.007
3	0.073	0.108
4	0.083	0.102
5	0>	0>
6	0.081	0.088
7	0.073	0.086
8	0.083	0.115
9	0.077	0.099
10	0.081	0.087

要　　約

各種濃度の硫酸銅海水溶液にアナアオサを浸漬し，藻体の生体活性におよぼす銅濃度の影響を検討した．また，その硫酸銅にEDTAを等モル加えて，銅なき

レート化合物として溶存せしめている場合の障害程度も併わせて検討した。活性度の判定は藻体組織中のＴＴＣ反応の強弱を吟味して行った。その結果を要約すると次の通りである。

1) 93時間硫酸銅海水溶液に浸漬すると，アナアオサ組織中の銅含量は浸漬前にくらべて増加し，逆に浸漬に使用した海水中の銅量は減少する。

2) 海水中 10^{-4} モル銅相当の硫酸銅，および 10^{-4} モル銅キレート化合物は共にアナアオサの活性を喪失せしめる。

3) アナアオサをＴＴＣ処理し，藻体組織の染色程度の肉眼的，顕微鏡的判定，抽出液の吸光値，吸光値から算出したＴＴＣ還元量を生体活性の基準として判定した。

文　　献

1) 中川 (1952)：昆布の生産から消費まで，p.47，函館.
2) 尾形，永井 (1954)：生理生態，6，10.
3) 尾形 (1956)：日水産，22，94，99.
4) ―― (――)：――，22，400，404.
5) ―― (――)：――，22，467.
6) 佐藤 (1953)：植雑，66，277.
7) ―― (1955)：――，68，315.
8) ―― (1956)：――，69，273.
9) 西尾 (1954)：日化総，28，794.
10) 五十嵐，駒木，松村 (1957)：本報告，(16) 92.
11) 上野 (1957)：キレート滴定法，3版，P.150，東京.
12) F. A. Richard (1952)：Journ. Mar. Res., 11，150.
13) 柳沢，浅川 (1953)：林学，35，40.

水産物の保蔵に関する研究 — VI
魚粉製造時の細菌について （その1）

笹島 正秋・大島　浩・石垣 知子

Studies on the Preservation of Marine Products – VI
On the bacteria in manufacturing process of fish meal. No. 1

By

Masatoki SASAJIMA, Hiroshi OSHIMA
and Tomoko ISHIGAKI

Since the occurrence of a case of food poisoning caused by Salmonella contamination of fish meal for domestic animals or chickens in eastern Germany, official certification regarding Salmonella examination and the heat treatment of fish meal is required to accompany all such exports to that country.

There has not been found to the present date in Japanese products subjected to test by German authorities any case of the presence of Salmonella. There is no datum supplied to Japan about this Salmonella examination not only in fish meal product, but also in respect to the preparation.

First, the present writers in September 1957, examined 175 samples of fish meal products made in Hokkaido for the detecting of Salmonella.

Recently, more thorough reserch and study have deen made in some fish meal production works.

The following conclusions were reached :

1) In spite of the boiling or heat-drying of materials, a fairly high general and enteric bacterial load could be found.

2) The multiplication of bacteria could not be found in normal fish meal products (moisture 8 – 12%), but could in the higher moisture (mor than 30%).

3) No sharp or clear change among the bacterial counts and the nitrogens could be recognized in pressed raw fish meals, but when the present primitive processes are used, the decomposition of meal by maggots is greater than by bacteria.

4) As the result of the examinations, there was freedom from Salmonella either in fish products or in the several points in the works including very dirty spots. But usually the bacteria which belong to the Escherichia group, Proteus group and others robably Achromobacter could be found.

緒　　　言

昭和31年度に輸出されたフイッシュミールは，全国で1万5千余トン，約6億7千万円で，北海道はその約1万2千余トン，5億3千万円を占めている。この輸出ミール中，約80%は西独向けのものであるが，近時，西独では輸入フイッシュミール中からサルモネラ菌が検出され，これが数多くの家畜，家禽の中毒症および栄養障害の主因となるものと見做された。同国では日本を始めアンゴラ，米国，チリ，ポルトガル，

ノルウェー等から輸入していたが，この中から22タイプ，72株のサルモネラ菌が検出された。わが国のものからは未だ検出されておらない。そこで西独市会では，これらの菌株による事故，障害を防止する目的から，家畜伝染病法を1958年3月1日[1]を以て改正発効した。同法によれば，加熱殺菌工程を経て製造した製品（連続機械製または機械乾燥製のもの）または細菌学的検査の上，サルモネラ菌を含まないことを示す公式証明書を添付した製品以外の魚粉は輸入を禁止されることになる。

われわれは，このような経緯から，まず道産ミール175点に亘りサルモネラ菌の存否を検索の結果，当該菌の存在しない事を明らかにした[2]。

本報告では，さらに実際に加工中の現場に於て，その製品環境，品質の変化と細菌の関係，菌のミール中の増殖性，サルモネラ菌の検索等の細菌試験とミール製品中の窒素変化を調べる化学試験を実施したので，その結果を報告する。

なお，本試験は昭和32年9月28日から約10日間，十勝国広尾町で実施したものである。

実施に際し種々御助言を戴いた北水研利用部長五十嵐彦仁博士，北水試加工部長岩垂亨技師，現地で試料の採取，試験設備等に大変お世話になつた広尾町役場，広尾漁協組，水検広尾支所，広尾保健所，細川商店の各位，貴重な菌株 Salmonella pullorum ; Escherichia coli 0-1 , Proteus morganii (PT 5), Proteus vulgaris (PT 3), Serratia marcescens, Salmonella enteritidis 等を夫々分与戴き，また種々御助言下さった農林省家畜衛生試験場北海道支場および国立予防衛生研究所の各位，血清反応につき種々御教示戴いた道衛研飯田，唐島田両技師，並びに本試験着手に際し多大の御協力を願った日本フイッシュミール協会の各位に対し厚く謝意を表します。

I 製造場の概況

供試工場は海岸に近く位する小規模な木造平屋建の工場で，従業員約20名，工場内は煮熟採油部門と熱風乾燥部門とに分かれており，使用後の排水は背後の川に注ぎ大海に連る。

原料魚煮熟場にはシロク（直径4尺6寸，深さ3尺）の釜3枚を備え，直火加熱式である。

1釜の原魚仕込量は約50貫，張水約2石，約30分間煮熟後締胴で圧搾，得られた生玉粕を粉砕乾燥する。煮熟水は原料の煮熟5回毎に換水する。煮熟中の最高湯温は92.5℃であった。当時は生玉粕は直ちに外に運び出され，路上に積重ね，莚掛けの上，暫時放置，干場の都合次第逐次天日或は熱風乾燥に附される。長いものでは1週間以上放置されていたが，この際，高温多湿になると蛆の発生が著しい。防蛆のためＤＤＴ粉剤を撒布して居たが，その効果は殆ど認められなかった。熱風乾燥装置としては竹田式1基を備え，熱風温度は約140℃,出口の品温約95℃,乾燥所要時間約30～40分。乾燥後は直ちに製品置場に堆積するので，時には余熱のため品温が80～90℃に迄上昇し，為に炭化して褐変している場合もあつた。

II 実験方法

1. 細菌試験の部

細菌数の測定は常法[3]により現地に於て実施した。また腸内細菌の検索は試料を胆汁グリセリン培地に投じて後，実験室に持帰り分離試験した。分離培地としてはＳＳ―寒天培地，ＢＴＢ乳糖寒天培地を用いた。手技，方法等は前報[2]と同様であるが，その他本研究で追加実施した事項および若干の補足説明事項等について記す。なお，主なる供試培地類の組成一覧表を第1表に示した。

1) 供試菌番号について，例えば第3表の菌株番号2―1，60―7等のように二つの数字を並記してあるが，左側の数字は第2表記載の試料番号に相当する。右側の数字は分離培地の種類を示し，1～5迄はＳＳ寒天培地，6以上はＢＴＢ寒天培地を使用したことを意味する。

2) 糖分解醗酵試験に用いる培地は適宜指示薬で着色してある。これに菌を接種培養後，反応陽性ならば，培地の斜面の変化，或は高層部の変色乃至ガス発生による亀裂等が見られる。第3表中ＫＩ，ＳＭの欄で，例えば－/AGとあれば斜面部の糖に対する反応性は陰性，高層部の糖に対しては反応性陽性で，酸(A)とガス(G)を発生することを示す。これは培地によって斜面部と高層部とでは大体糖の種類が異るためで，

Table 1. Prescriptions of chief cultures (Per 1 litre).

	SS-Agar	MacConkey Agar	KI Agar	SM Agar	SC Agar	BTB Agar	Urea Med.	Sugar Med.	Glucose Phosphate Broth	IM Med.	KCN Med.
Meat extract	5.0	5.0	3.0	10.0		5.0					
Peptone	5.0	17.0	15.0	10.0		5.0	20.0	10.0	5.0	20.0	6.0
NaCl		5.0	5.0	3.0	5.0	3.0	5.0			5.0	10.0
Lactose	10.0	10.0				10.0		Carbohydrates 5.0		10.0	
Sucrose				10.0						5.0	
Mannitol				1.0							
Glucose			1.0						5.0		
Bile salt	8.5	1.5									
Na-citrate	8.5				2.0						
Na-thiosulfate	8.5		0.3								
Fe-citrate	1.0										
$MgSO_4$											
$FeSO_4$			0.2		0.2						
$NH_4H_2PO_4$					1.0						
K_2HPO_4					1.0		1.0		5.0		
KH_2PO_4							1.0				0.5
$Na_2HPO_4 \cdot 12aq.$											20.0
Urea							30.0			20.0	
KCN											0.3
NR	0.025	0.03									
BTB					0.08	0.08		0.024		IM Reag. * 10.0cc	
BCP				0.024							
CV		0.001									
BG	0.00033										
PR			0.024				0.1				
Alcohol (95%)							10.0cc				
Agar	13.5	15.0	12.0	20.0	15.0	12.0					
pH	7.0	7.3	7.4	7.0	7.4	7.4	7.0	7.2	7.5	7.2	

Remarks

* Andrade's reagent (0.5% Acid fuchsin : 1N-NaOH=100 : 16) : Thymol blue=100 : 0.4

ＫＩ培地の斜面ではラクトース（乳糖），高層部ではグルコース（葡萄糖），ＳＭ培地では斜面部シュークロース（蔗糖），高層部マンニット等の各糖に対する菌の性質を知ることができる。なお，糖醗酵性の正確を期するためには，別に純糖を加えた培地を用いて更に検査する必要がある。

3) 運動性は半流動寒天に穿刺し培地が全般的に溷濁したものを陽性とした。疑わしい場合は18～20時間培養の新鮮菌を用いて懸滴標本を作り，顕微鏡下で検し視野中を横切る菌があれば陽性とした。

4) 尿素分解性は培地をリラ色に変色するものを陽性とした。

5) 硝酸塩還元性は所要の試薬を加えて赤変したものを陽性とした。

6) 一般細菌数は普通培地に発育したコロニー数，腸内細菌数は便宜的にマッコンキー培地上の赤変コロニー数（大腸菌群）を以て測定した。

7) H_2S産生能はＫＩ培地を黒変するものを陽性とした。

8) VP (Voges-proskauer) 反応，MP (Methyl-red) 反応は常法に従い実施し，前者は桃紅色，後者は赤色に変色するものを陽性とした。

9) ＫＣＮ反応では培地が溷濁するものを陽性とした。

10) ＩＭ培地はラクトース，シュークロースおよび尿素を含有するので，ＫＩ培地，ＳＭ培地および尿素培地と夫々一部重複するが，サルモネラ菌検索時の農林省輸出品検査所公定法試験培地なので参考迄に実施した。

11) ＰＰＡ (Phenyl-pyruvic acid) 反応は0.1％に dl-penylalanine を含む滅菌生理食塩水溶液に菌を浮游させ，37℃，4～5時間培養後，半飽和鉄明礬液を2～3滴加え15分間以内に緑色となるものを陽性とした。

12) サルモネラ菌診断用血清による凝集反応は多価O血清，必要あれば適宜菌群診断用O血清，およびH血清を用いスライド硝子上でその凝集の有無を検した。またvi抗原を加熱破壊してからO抗原を決定する操作も実施した。なお，Vi 血清による診断は不要と認め実施しなかった。

2. 化学試験の部

1) 各試料は細砕後その約 10 g を精秤し，これに 5 % $HClO_4$ を適量投入して固定後，実験室に持帰り供試した。

2) 過塩素酸 ($HClO_4$) 可溶性窒素 (S-N)

1)の試料を濾過し,沈澱を 5 % $HClO_4$ で 2～3 回洗滌後，全濾液を合し一定量とし，これより一部を精取し，ケルダール法で完全に分解後，微量拡散法[4] で比色定量した。即ち試料液 5 ccを分解後全量 100 ccとし，その 2 cc を拡散容器の外室に，1/70 N-Hcl 1 ccを内室に夫々秤取し，更に外室に 50% KOH を注入後直ちに施蓋し，37℃，70 分間拡散を行った後，内室より 0.5 ccを取り，これに蒸溜水 10 ccおよびネスラー試薬 0.4 ccを加え発色させ，30～50 分後に 430 mμ のフイルターを用いて光電比色計で比色定量した。

3) $HClO_4$ 非可溶性窒素 (N-S-N)

2)で濾別した全沈澱を濾紙と共にケルダール法で完全に分解後，その全量を 250 ccとし，その 10 ccを取り再び 250cc とし，その 2 ccを用いて微量拡散法で拡散後比色定量した。

4) アンモニア態窒素 (NH_3-N)

2)で濾取した試料濾液を 2 cc用いて，微量拡散法で比色定量した。この際，外室には 50 % KOH の代りに飽和 K_2CO_3 を用いた。

5) 水　　分

試料 20 g を現地で粗乾後，実験室に持帰り常法通り 105 ℃ で乾燥し恒量となった時の減量%を水分とした。

III 実　験　結　果

1. 細菌試験の部

1) 製品ミール中の細菌の増殖について

通常のミール製品（水分約 8～10 %）中で実際の細菌が増殖するものか，どうかを知るために 36 日間に亘り室温で放置し菌数の変化を調べた結果を第 2 — a 表に示した。この結果，何れも細菌数の増減は認めら

Table 2-a. Bacterial counts in fish meal during the storage at room temperature.

Sample	Moisture %	Days 0	1	7	15	22	36
A	8—10	0	0	0	0	0	0
B	〃	0	0	0	0	0	0
C	〃	10^5	10^5	10^5	10^5	10^4	10^4
D	〃	10^5	10^5	10^5	10^5	10^4	10^4
E	〃	10^4	10^4	10^4	10^4	10^4	10^4

Table 2-b. Bacterial counts in fish meal during the storage at room temperature.

Sample	Moisture %	Days 0 General	0 Enteric	1 General	1 Enteric	3 General	3 Enteric	7 General	7 Enteric	14 General	14 Enteric
A	ca. 10	1.1×10^6	2.0×10^2	—	—	—	—	—	—	—	—
B	ca. 20	—	—	1.3×10^6	1.0×10^2	1.5×10^6	—	8.8×10^5	9.0×10^1	1.2×10^6	—
C	ca. 30	—	—	1.2×10^6	—	1.8×10^6	—	1.3×10^6	3.9×10^2	3.9×10^8	2.0×10^2
D	ca. 40	—	—	1.8×10^6	8.5×10^2	1.3×10^6	2.0×10^2	1.3×10^7	4.2×10^2	1.1×10^9	—
E	ca. 50	—	—	1.5×10^6	1.6×10^3	1.3×10^6	—	5.6×10^8	5.0×10^2	7.0×10^9	—
F	ca. 60	—	—	2.0×10^6	4.0×10^3	2.4×10^6	3.0×10^3	1.0×10^9	6.7×10^2	—	—

れなかったので，次に製品ミールに滅菌水を加えて水分を10～60％に調製した試料を作り，同様に菌数変化を調べ，その結果を第2—b表および第1図に示した。

これらの結果から通常の低水分ミール中では菌の増殖は殆ど行われないが，30％以上となると菌の増加が認められる。

2) ミール製造場の細菌について

製造場の環境汚染度の目安として調べた一般細菌数，およびマッコンキー培地赤変菌数（これは腸内細菌の中，大腸菌群の菌数で表示した）については第3表，また供試菌52株の一般的な細菌学的性状については第4表に夫々示した。

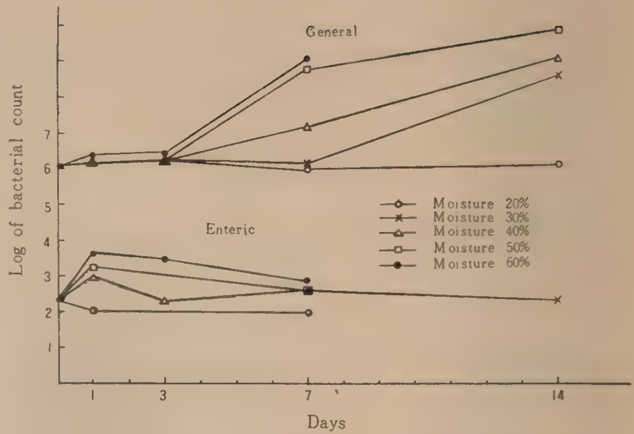


Fig. 1. The curves of general and enteric bacterial counts in fish meal products during the storage at room temperature.

Table 3. The general and enteric bacteria loads in a fish meal works.

Sample No.	Sampling place	Moisture	General	Enteric	Remarks
1	Pressed raw fish meal (just made, from outside layer)	59.5%	4.5×10^4	1.0×10^3	Bacterial counts were measured in each 1 gram except 14, 15 and 16. Bacterial numbers of 14 to 16 counted the falling number in each 60 cm² of plate agar medium for 5 minute.
2	Waste crushed fish meal (dirty, drying under sunshine)	51.0	2.3×10^7	6.5×10^6	
3	Pressed raw fish meal (just made, from inside layer)	56.0	5.0×10^3	2.3×10^3	
4	Pressed raw fish meal (1D. later, outside)	48.1	8.0×10^7	1.2×10^7	
5	〃 (〃 , inside)	58.0	1.1×10^5	1.0×10^4	
6	〃 (3D. later, outside)	66.0	5.9×10^8	6.0×10^7	
7	〃 (〃 , inside)	55.0	1.0×10^8	1.0×10^7	
10	Crushed raw fish meal (1D. later since crushed, or, 8D. later from outset)	55.0	1.1×10^7	7.8×10^6	
13	Waste crushed raw fish meal (adhered on straw-mat)	12.5	6.6×10^7	3.6×10^7	
14	Air in works	—	10	1	
15	Air of drying place (road, close by the works)	—	19	1	
16	〃 (grassy plain)	—	1	0	
20	Crushed raw fish meal (on the floor in works)	35.5	6.6×10^7	2.1×10^7	
31	Raw fish meal (Just caught a rain during the drying, or, 7D. later from the outset, ouside)	62.0	3.9×10^8	2.0×10^5	
32	〃 (〃 , inside)	48.5	9.9×10^8	1.1×10^8	
33	〃 (1D. later since caught a rain during the drying, or, 8D. later from the outset, outside)	54.0	1.3×10^9	8.0×10^8	
34	〃 (〃 , inside)	65.5	1.2×10^8	1.0×10^7	

Sample No.	Sampling place	Moisture	General	Enteric	Remarks
35	Raw fish meal (3D. later since caught a rain during the drying, or, 10D. later from the outset, outside)	—	5.6×10^{9}	1.0×10^{8}	
40	Sewage (in oil separator-tank, fairly putrid)	—	3.2×10^{6}	1.0×10^{5}	
41	Boiling water (material fish twice treated)	—	9.8×10^{1}	0	
42	〃 (material fish once treated)	—	1.6×10^{1}	0	
50	Crushed raw fish meal (before drying, maggots found)	55.0	3.9×10^{7}	1.0×10^{7}	
51	Crushed raw fish meal (after drying by dryer, 10 Min. later)	44.0	2.6×10^{6}	4.2×10^{5}	
60	Fish meal (fine powdered)	8.68	—	0	
61	〃 (fine powdered, slightly burnt)	9.39	2.8×10^{6}	0	
62	〃 (not powdered)	10.11	4.5×10^{3}	6.0×10^{4}	
63	〃 (〃)	10.24	—	5.0×10^{6}	
64	〃 (〃)	9.21	7.5×10^{4}	0	
65	〃 (〃)	—	—	—	
66	〃 (〃)	—	—	—	
67	〃 (〃)	—	—	—	
68	〃 (〃)	—	—	—	
69	〃 (〃)	9.54	2.0×10^{6}	1.7×10^{6}	

Table 4. The cultural characters of 52 strains.

Strain No.	Pigment	Gram stain	KI	SM	SC	Decomposition of urea			Motility	Indole	H_2S	VP	MR	Reduction of nitrate
						4 h	24 h	48 h						
2-1	—	—	—/—	A/AG	+	—	—	—	+	—	+	—	+	+
2-2	—	—	A/AG	—/——	+	—	—	—	—	—	+	—	+	+
2-6	—	—	A/AG	A/AG	+	—	—	—	+	—	+	—	+	+
2-7	—	—	—/——	—/AG	+	—	—	—	—	—	+	—	+	+
10-1	—	—	—/AG	—/AG	+	—	—	—	+	—	—	+	—	+
10-2	—	—	—/AG	—/AG	+	+			+	—	+	+	+	+
10-6	—	—	—/AG	—/—G	—	—	—	—	+	—	—	—	+	+
10-7	—	—	—/AG	—/——	—	—	—	—	+	—	—	—	+	+
13-1	—	—	—/AG	A/AG	—	—	—	—	—	—	+	—	+	+
13-2	—	—	—/AG	A/AG	—	—	—	—	—	—	+	—	+	+
13-6	—	—	—/AG	A/AG	—	—	—	—	—	—	+	—	+	+
20-1	—	—	—/A—	—/AG	+	+			+	—	+	+	+	+
20-2	—	—	—/AG	A/AG	+	+			—	—	+	—	+	+
20-6	—	—	—/——	—/AG	+	+			+	—	+	+	—	+
31-1	—	—	—/AG	—/AG	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
31-6	—	—	—/AG	A/AG	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
31-7	—	—	A/A—	—/A—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
32-1	—	—	—/AG	—/AG	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+
32-2	—	—	A/AG	—/AG	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+
32-3	—	—	—/AG	—/AG	+	—	—	—	—	—	+	—	+	+
32-7	—	—	A/AG	A/AG	—	—	—	—	—	+	—	—	+	+
60-1	—	—	A/AG	—/—G	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
60-6	—	—	A/AG	—/—G	—	—	—	—	—	+	—	—	+	+
60-7	—	—	A/AG	—/AG	—	—	—	—	—	+	—	—	+	+
61-1	—	—	—/——	—/——	+	+			—	—	+	—	+	+
61-2	—	—	A/AG	—/——	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
61-6	—	—	A/AG	—/——	—	—	—	—	—	+	—	—	+	+
61-7	—	—	A/AG	—/——	—	—	—	—	—	+	—	—	+	+
62-1	—	—	—/AG	—/—G	+	+			—	—	—	—	+	+
62-2	—	—	—/AG	—/AG	+	+			—	—	+	—	+	+

Strain No.	Pigment	Gram stain	K I	S M	S C	Decomposition of orea 4h	24h	48h	Motility	Indole	H_2S	V P	M R	Reduction of nitrate
62-6	—	—	A/AG	—/—G	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
62-7	—	—	A/AG	A/AG	—	—	—	—	—	+	—	—	+	+
63-1	—	—	A/AG	—/—G	—	—	—	—	—	+	—	—	+	+
63-6	—	—	A/AG	A/AG	+	—	—	—	—	+	—	—	+	+
63-7	—	—	A/AG	—/—G	—	—	—	—	—	+	—	—	+	+
64-1	—	—	A/AG	A/AG	—	—	—	—	—	+	—	—	+	+
64-6	—	—	A/AG	—/AG	—	—	—	—	—	+	—	—	+	+
65-6	—	+	A/A—	—/A—	—	—	—	—	—	—	—			+
66-1	—	—	A/A—	—/——	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+
66-6	—	—	A/A—	—/——	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—
67-1	—	—	—/——	—/——	—	+			—	—	+	—	+	+
67-2	—	—	A/AG	—/—G	—	—	—	—	+	—	—	—	+	+
67-3	—	—	A/AG	A/AG	—	+			+	—	+	—	+	+
67-6	—	—	—/AG	—/——	+	+			+	—	+	—	+	+
67-7	—	—	A/AG	—/AG	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
68-1	—	—	—/AG	A/AG	+	—	—	—	+	—	—	+	+	+
68-2	—	—	A/AG	—/AG	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
68-6	—	—	A/AG	A/AG	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
68-7	—	—	A/AG	A/AG	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
69-1	—	—	—/AG	A/AG	+	—	—	—	+	—	—	+	—	+
69-6	—	—	—/AG	A/AG	+	—	—	—	+	+	—	+	+	+
69-7	—	+	A/A—	A/A—	—	—	—	—	—	—	—			—
S. ent.	—	—	—/AG	—/AG	+	—	—	—	+	—	+	—	+	+
S. pull.	—	—	—/A—	—/A—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
E. col.	—	—	A/AG	—/AG	—	—	—	—	+	+	—	—	+	+
P. vul.	—	—	—/AG	—/A—	+	+	—	—	+	+	+	—	+	+

N.B. :+ = Positive, — = negative

これ等をその特性に基ずいて大別分類すれば第5表の通りである。

Table 5. The roughly division of obtained enteric bacteria.

Group	Number of strain which appropriate to	Total
Escherichieae	2-2, 2-6, 32-2, 32-7, 60-1, 60-6, 60-7, 61-2, 61-6, 61-7, 62-6, 62-7, 63-1, 63-6, 63-7, 64-1, 64-6, 67-2, 67-3, 67-7, 68-2, 68-6, 68-7	23
Proteeae	10-2, 20-1, 20-2, 62-1, 62-2, 67-6	6
Others	2-1, 2-7, 10-1, 10-6, 10-7, 13-1, 13-2, 13-6, 20-6, 31-1, 31-6, 31-7, 32-1, 32-3, 61-1, 65-6*, 66-1, 66-6, 67-1, 68-1, 69-1, 69-6, 69-7*	23
Total		52

N.B. : * means gram-positive.

分類基準としては，1)グルコース，ラクトースを分解して色素を産生しないグラム陰性桿菌を大腸菌系，2)グルコースは分解するがラクトースは分解しなく，また尿素を48時間以内に分解するグラム陰性桿菌をプロテウス菌系，3)前記の何れにも属しないもの，の三つに大別した．この分類は Bergey's manual[5] によったが，医学的または獣医学的な目的から検索する必要があれば International Enterobacteriaceae Sub-committee の分類法に従った方がよいようである。[3~b), 6)]

いわゆる Salmonella 属はothers グループに含まれる訳であるので，この others グループについて，更に Salmonella を検出する目的で他の培養学的性状とサルモネラ菌の血清学的診断とを実施した．その結果を取りまとめて第6表に示した。

この結果 Salmonella に属するものは見出されなかった。

Table 6. The cultural and serological characters of "Others" 23-strains.

Strain No.	KI	SM	SC	IM	Anaerob. fermn. of lactose	Urea	KCN	PPA	Litmus milk	Indole	Gelatin	Motility	Agglutination test by Salmonella diagnose sera: Polyvalent-O, not heated	Polyvalent-O, heated***	H
2-1*	—/——	A/AG	+		—	—				—	—	+			
2-7	—/——	—/AG	+	N**	—	—	+	—	slightly acid, no coagulation	—	—	—	—	—	—
10-1	—/AG	—/AG	+	Y**	+	—	+	—	acid, entirely coagulated	—	—	+	—	—	—
10-6	—/AG	—/—G	—	R**	+	—	+	—	〃	—	—	+	—	—	—
10-7	—/AG	—/——	—	R	+	—	+	—	〃	—	—	+	—	—	—
13-1	—/AG	A/GA	—	R	+	—	+	—	〃	—	—	—	—	—	—
13-2	—/AG	A/AG	—	R	+	—	+	—	slightly acid not coagulation	—	—	—	—	—	—
13-6	—/AG	A/AG	—	R	+	—	+	—	〃	—	—	—	—	—	—
20-6	—/——	—/AG	+	N	—	+	+	—	〃	—	—	+	—	—	—
31-1	—/AG	—/AG	—	R	+	—	+	—	acid, entirely coagulated	—	—	—	—	—	—
31-6	—/AG	A/AG	—	N	—	—	+	—	acid, coagulated	—	—	—	—	—	—
31-7	A/A—	—/A—	—	Y	—	—	—	—	acid, entirely coagulated	—	+	—	—	—	—
32-1	—/AG	—/AG	+	N	+	—	+	—	acid but no coagulation	—	—	—	—	—	—
32-3	—/AG	—/AG	+	Y	+	—	+	—	〃	—	—	—	—	—	—
61-1	—/——	—/——	+	N	—	+	+	+	no change	—	+	—	—	—	—
65-6	(Gram stain Positive)														
66-1	A/A—	—/——	+	N	—	—	+	—	slightly acid, no coagulation	—	—	—	—	—	—
66-6	A/A—	—/——	—	B	—	—	—	—	no change	—	—	+	—	—	—
67-1	—/——	—/——	—	N	—	+	+	+	alkaline. peptonized	—	+	—	—	—	—
68-1	—/AG	A/AG	+	R	+	—	+	—	acid, entirely coagulated	—	—	+	—	—	—
69-1	—/AG	A/AG	+	R	+	—	+	—	acid, no coagulation	—	—	+	—	—	—
69-6	—/AG	A/AG	+	R	+	—	+	—	acid, soft coagulation	+	—	+	—	—	—
69-7	(Gram stain Positive)														
S. ent.	—/AG	—/AG	—	N	—	—	—	—	faintly acid, no coagulation	—	—	+	+ +(0-5:9,12)		+ (H-6:g,m)
S. pull.	—/A—	—/A—	—	N	—	—	—	—	slightly acid, no coagulation	—	—	—	+ +(0-5:9,12)		—
P. vul.	—/AG	—/A—	—	B	—	+	+	+	no change	+	+	+	—	—	
E. col.	A/AG	—/AG	—	R	+	—	—	—	acid, no coagulation	+	—	+	—	—	

N. B. : * signifies the strain which dead in the midst of tests.

** denotes as follows : N = no change, Y = culture medium turned to yellow, R = turned to red.

*** strains suspensions were heated at 100°C., 60 min.

2. 化学試験の部

各種工程中の窒素の変化と，細菌数との関連性の有無を調べる目的で実験した．結果は第7表および第2図に示した通りである。

Table 7. The change of nitrogen which is owing to the bacterial load in pressed raw fish cake during the storage.

Sample No.	Sampling place	Bact. count in Log		%						
		General	Enteric	T-N	N-S-N	N-S-N/T-N	S-N	S-N/T-N	NH_3-N	NH_3-N/T-N
1	Outside of the cake, 0D. later	4.65	3.00	6.04	5.61	93.0	0.34	5.7	0.078	1.3
3	Inside of the cake, 0D. later	3.69	3.36	3.55	2.99	84.5	0.48	13.6	0.067	1.9
4	Outisde of the cake, 1D. later	7.90	7.07	2.29	2.09	91.3	0.16	7.1	0.036	1.6
5	Inside of the cake, 1D. later	5.04	4.00	2.19	1.87	85.6	0.28	13.0	0.030	1.4
6	Outside of the cake 3D. later	8.77	7.77	1.86	1.27	68.7	0.51	27.9	0.063	3.4
7	Inside of the cake, 3D. later	8.00	7.00	4.68	4.11	88.0	0.49	10.5	0.070	1.5
31	Outside of the cake, 7D. later, caught a rain during the drying	8.59	5.30	4.12	3.52	85.6	0.46	11.2	0.013	3.2
32	Inside of the cake, 7D, later, caught a rain during the drying	8.99	8.04	—	—	—	—	—	—	—
33	Outside of the cake, 8D. later, caught a rain durnig the drying	9.11	8.90	3.82	3.23	84.7	0.56	14.9	0.015	0.4
34	Inside of the cake, 8D. later, caught a rain durig the drying	8.07	7.00	5.67	5.15	90.9	0.40	7.1	0.011	2.0
35	Outside of the cake, 10D. later, caught a rain during the drying	9.74	8.00		—	—	—	—	—	—

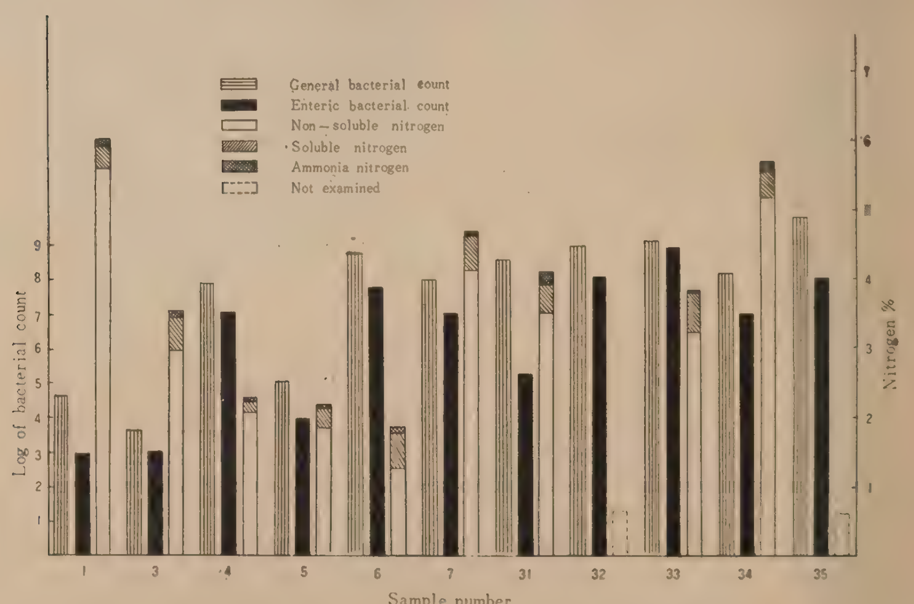


Fig. 2. The change of nitrogen which is caused by the bacterial load in pressed raw fish cake during the storage at about 15-20°C.

なお，試料番号1～7迄は試験中雨を受けなかったもの，31～35迄は雨を受けたものである。また T-N の数値は N-S-N，S-N および NH_3-N の各実測値の総和であって，直接測定したものではない。

IV 考　　察

1. 細菌数について

1) 水分8～10%程度の製品ミールを37℃に長期貯蔵しても菌数は全然増加しない。従って製品ミールの菌数が，一般に 10^4～10^6であるということは，主として製造終了時の菌数に由来することになる (Table 2-a)。

2) 製品ミールの水分を変えて (20～60%)，常温 (15～20℃) に保存すると，水分20%以下では殆ど菌の増殖は認められないが，30%以上になると顕著に認められる (Table 2-b)。このことからフイッシュミールにおいても，他の一般生鮮食品同様，水分が菌の増殖に大きな影響を与えるので，輸出ミールの品質を保持し，細菌類に起因する事故を防ぐため，現行輸出品検査規格の「水分12%以下」は必ず厳守する必要がある。

3) 一般に煮熟，圧搾直後における生ミールの残存細菌数は10^4であり，煮熟 (95℃, 30分) によってもその細菌はかなり残存し，大腸菌群に属する無芽胞菌でさへ10^3含まれている。水分50～70%の生玉魚粕の細菌数は外部に多いが，1日放置後には内外の差は少くなり，共に3日目で略々平衡に達する (Table 3,7 および Fig. 2)。

4) 乾燥途中，雨を受けたものと，然らざるものとの菌数を比較したが，サンプリングロットを異にしたので二者間の比較はできないが，試験の結果では両区共その最大増殖期の菌数は略々等しく10^8～10^9を示す。これは生玉は雨を受けないものでもかなり高水分なので，これが更に雨を蒙っても細菌の増殖を更に促進することはないものと考えても差支えない。雨を蒙った場合は細菌数の多少を云々するよりは，寧ろ蛆の発生の多少の方がもっと実際的に問題である (Table 7，Fig. 2)。

5) 一般細菌数と腸内細菌数とに大差がない (Fig. 2) ことは，一般菌数の大部分は腸内細菌（マッコンキー培地赤変菌）数であることを意味し，現在の大部分の製造環境が良好とはいわれないことを暗示しよう。

6) 天日乾燥および機械乾燥（この場合は竹田式）の除滅菌効果は一般細菌については，何れの場合も生玉時の最高菌数，即ち10^8～10^9から約1,000分の1減少して10^5～10^6となるに過ぎないが，腸内細菌数については天日乾燥の場合は10^8から1,000～10,000分の1減少し10^4～10^6となるのに対し，機械乾燥品では皆無の結果が得られた (Table 3)。このことからサルモネラ菌は勿論，大腸菌群に属するもの，およびその他の腸内細菌の無い製品を作るためには機械乾燥が最良の方法といえよう。

7) 予備試験の結果ミールの滅菌法としては，乾熱よりも湿熱の方が効果的である。乾熱の場合，容器に拡げて乾燥すると効果が悪いが，ロータリーキルン型のように絶えず攪拌混合して居るものならば熱風（乾熱）方式でも有効と思われる。乾熱乾燥による除滅菌の検討は今後機会があれば詳細に実験したい。

2. 腸内細菌について

1) 製造時の各種試料16点から分離採取した供試菌52株について諸種の性状を調べた結果，大腸菌族 (Escherichiea) 23株，プロテウス菌族 (Proteeae) 6株，およびその他のもの (others) 23株に分けられた (Table 4,5)。サルモネラ菌があるとすれば，others グループ中に含まれる可能性があるので，この23株の菌性状を更に精査したが，サルモネラ菌の性質は陰性であった (Table 6)。従ってミール工場および製造中の製品には一般にサルモネラ菌そのものは存在しないものと考える。

2) 検出した菌の約45%は大腸菌群に属する。しかも大腸菌群の中にはサルモネラ菌と同様の病原性を示す菌が見出されているので，なお問題点がある。

以上1，2の結果から菌の発育は水分と最も密接な関係があり，ミール中の細菌増殖は含水分の高い生玉の時期に速かに最大増殖して平衡に達し，製品ミールのような低水分の時期には行われ難いことは明らかである。また現行製造法では一般細菌，腸内細菌を問わず菌数がかなり多く，サルモネラ菌そのものは見出さ

れなかったが，好気性または嫌気性の大腸菌族，変形菌族，その他の細菌により著しく汚染されている。一般に滅菌は汚染度が少いもの程効果的であることと，生玉時に菌の増殖が最も旺盛であること等から考えて，生玉を貯蔵後ドライヤー乾燥時に一気に殺菌するよりは，煮熟工程である程度減菌された玉粕を，その後二次汚染が行なわれない内に出来るだけ速かに乾燥と滅菌を兼ねた処理方式を取ることが望ましい。

3. 窒素変化について

一般的に蛋白質の大部分は細菌によって可溶性－N，揮発性－N等に分解されるが，これは製品の歩留，並びに品質（特に栄養価）に影響を与えることになるので，菌数と各態窒素の変化を調べた。試料番号1～7迄の雨を受けなかったもの，31～35迄は雨を受けたものであるが，都合で両区のロットは夫々異るものを用いたので，両区間の変化を比較することは当を得ないのであるが，両区とも細菌の発育に必要な最低水分である30％よりは遥かに高い水分（50～60％前後）であるので，菌の発育に基ずく変化を知る場合には同じロットと見做しても差支えないものと考える。

生玉粕の菌数は放置するに従い増加し，3日目で略々最高に達し，後平衡状態を保つ。このような菌数変化に対し得られたT-N変化の結果は甚だ不規則性を示し，このT-Nの増減を以て生玉の分解程度の云々は出来なかった。またS-Nは生玉の外部と内部とでは異るが，この平均値を見ると時間の経過と共に増加の傾向を示し，3日目で最高に達するが，然し，その程度はさほど著しいものではない。NH_3-Nについては時日の経過と共に規則的に増加することなく，その絶対値は寧ろ時日を経過したものが減少し，T-N当りの比率では3％以下であった。

以上のような結果によると菌数の多い割に規則的なN変化が見られなかった。実際に現場で観察した処では歩留に対する影響は細菌によるよりは遥に蛆による方が大きく，生玉魚粕の保蔵対策としては防蛆のみで殆どその目的が達せられるようである。

註）蛆の発生は玉粕で保蔵中に雨を受けた場合が最も速かで，また蛆の発生した玉粕の腐敗は極めて急激である。防蛆法としては従来から種々な試みがなされたが，安藤[7]等は次のような実験を行い，その効果を認めている。即ち煮熟直後の魚粕に1％の割合に1.5％のγ-BHC粉剤，10％DDT粉剤，或は1％リンデン粉剤を混合し，次いで軽く圧搾貯蔵した場合，何れも有効であることを認めている。一方，前記工場の場合，圧搾後の生玉魚粕にDDT粉剤を適宜撒布していたが，その効果は全然認められなかった事は，結局その用法に欠陥があったことになろう。然し安藤等の混合法は肥料用は別としても，飼料専用のものの場合はその毒性，夾雑物の増加等一考を要するものと思われる。

V 要　　　約

1） 北海道のフイッシュミール工場における製造過程中の諸試料について一般細菌数，腸内細菌数（マッコンキー培地赤変菌数），サルモネラ菌検索，粉末ミール製品中の菌の増殖性，玉魚粕貯蔵中の窒素変化等を試験した。

2） 一般に製造中のものと製品は，煮熟および乾燥工程を経ている割には菌数が少くない。

3） ミール末中の菌の増殖は殆ど認められないが，水分が著しく多い場合には急激に旺盛になる。

4） 玉粕貯蔵中の窒素変化は，細菌よりも寧ろ蛆による影響が大きく，特に雨を受けると著しく促進される。

5） サルモネラ菌は当試験における16点の試料と過去に実施した製品ミール175点の試料の何れからも検出されなかった。

6） 一般細菌および腸内細菌が多数存在することは，製法が非衛生的であり，また製品の管理も適当でなく常に細菌学的に危険な状態に曝されていることを意味する。特に大腸菌の中にはサルモネラ菌と同様の病原性を示すものがあるので注意が必要である。

7） 上記の理由から現行製造法は汚染機会を可及的に少くするため連続機械的製法，または少くとも乾燥工程を能率的な機械乾燥法に改めるか，薬剤またはその他の物理的方法により除滅菌し，さらに斯くして得られた製品は，その後の汚染（第2次汚染）を防止するよう管理，包装，出荷することが必要であると結論

されよう。

なお，本報告の一部は昭和33年度日本水産学会（東京）で発表した。

文　　献

1) Der Versammlung des Senats Hamburg, den 19, Nov. 1957.

2) 大島浩・笹島正秋・神崎知子 (1957)：北水試月報，14(7)，30～33.

3) a　厚生省編 (1950)：衛生検査指針 I，細菌・血清学的検査指針(I)，第3版，協同医書.

b　坂崎利一・波岡茂郎著 (　　)：腸内細菌検索法，納谷書店.

4) Conway, E. J. 著・石坂音治訳 (1952)：微量拡散分析及び誤差論，第1版，南江堂.

5) Breed. R. S.; Murray, E. G. D.; Hitchens, A. P.(1948): Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 6th Ed.

6) 坂崎利一：私信.

7) 安藤芳明・長谷川恩 (1957)：北海道立衛生研究所報，第8集.

昭和33年 8 月15日　印刷
昭和33年 8 月25日　発行

編集兼発行者　水産庁北海道区水産研究所

札幌市南2条西6丁目
印刷者　山　藤　国　八

札幌市南2条西6丁目
印刷所　山藤印刷株式会社

BULLETIN
OF THE
HOKKAIDO REGIONAL
FISHERIES RESEARCH LABORATORY
FISHERIES AGENCY

No. 18

CONTENTS

August, 1958

SANDO PRINTING CO., LTD.